Vergleichende chemische Untersuchungen in der Gruppe der Pektine

Von der

Technischen Hochschule zu Breslau zur Erlangung

der Würde eines Doktor-Ingenieurs genehmigte

Dissertation

Vorgelegt von

Dipl.-Ing. Ruth Haensel

aus **Myslowitz O/S.**

Referent: Prof. Dr. phil. F. Ehrlich Korreferent: Prof. Dr. phil. F. Straus

Tag der mündlichen Prüfung: 22. Februar 1934

Otto Elsner Verlagsgesellschaft, Berlin S 42, Oranienstraße 140-142

*37593

Erschienen in zwei Teilen in der Zeitschrift

„Cellulosechemie“:

1. „Ueber die Zusammensetzung des Pektins der Aepfel und über seinen fermentativen Abbau“

XVII. Jahrgang Seite 1—12 und 13—16 (1936)

2. „Chemische Untersuchungen über das Pektin des Ramiebastes“

XVI. Jahrgang Seite 97—107 und 109—114 (1935)

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

I. Ueber die Zusammensetzung des Pektins der Aepfel und über seinen fermentativen Abbau.

Das in der Pflanzenwelt in allen Teilen weitverbreitete Pektin enthält nach den bisherigen Untersuchungen von F. Ehrlich[1]) und seinen Mitarbeitern qualitativ stets dieselben Bausteine, in erster Linie die Galakturonsäure und außerdem regelmäßig Arabinose, Galaktose, Methylalkohol und Essigsäure.

In quantitativer Hinsicht finden sich aber diese Bausteine in den komplexen Pektinverbindungen der Früchte, Wurzeln, Blätter und Stengel der Pflanzen und in den daraus isolierten Pektinsäuren in sehr verschiedenen Mengenverhältnissen, die auch abhängen von der Art und Gattung der Pflanzen, von ihrem Alter, ihrem Reifegrad und von anderen vegetativen Faktoren. Dementsprechend ist das natürliche Pektin kein einheitlicher chemischer Körper, sondern stets ein Gemenge von verschieden löslichen komplexen Pektinsubstanzen, die infolge ihrer sehr ähnlichen physikalischen und chemischen Eigenschaften sich nur sehr schwer entmischen und voneinander trennen lassen. Sie sind offenbar alle aus einem Ursprungspektin hervorgegangen, das zunächst in wasserunlöslicher Form einen Teil der wandständigen Gerüstsubstanz der Pflanze bildete und dann während des Wachstums durch chemische und fermentative Vorgänge eine partielle Hydrolyse und einen mehr oder minder weitgehenden Abbau zu wasserlöslichen niedrigermolekularen Verbindungen erfahren hat.

Aus den Gemischen der natürlichen Pektinsubstanzen war es in einzelnen Fällen möglich, eine einheitlich gebaute Verbindung abzuscheiden, indem man zunächst die in Wasser leichter löslichen Fraktionen entfernte und dann das zurückbleibende in kaltem Wasser unlösliche wandständige Pektin einer längeren Heißwasserhydrolyse unterwarf. Aus dem hierbei durch Kochen mit Wasser in Lösung gehenden Hydratopektin konnte bei Behandlung mit Salzsäure und Alkohol eine primäre Pektinsäure isoliert werden, die in gleicher chemischer Zusammensetzung aus derartig heterogenen Pektinarten wie der Zuckerrübenwurzeln und der Orangenschalen erhalten wurde. Sie hat die Bruttoformel $C_{41}H_{60}O_{36}$ und enthält in glykosidischer Bindung 4 Mol. d-Galakturonsäure, 1 Mol. l-Arabinose und 1 Mol. d-Galaktose und außerdem noch 2 Mol. Methylalkohol und 2 Mol. Essigsäure. In der primären Pektinsäure liegen von den vier Carboxyl-Gruppen der komplex gebundenen Tetragalakturonsäure zwei in Form eines Dimethyl-Esters und zwei andere in freier Form vor, die in dem ursprünglichen Pektin durch Calcium und Magnesium neutralisiert sind. Das wasserunlösliche wandständige Pektin besteht offenbar aus einem solchen Pektinat mit einem Polysaccharid, Araban, in lockerer Bindung, die schon durch heißes Wasser aufgesprengt wird, worauf dann die beiden Komponenten in die wäßrige Lösung gehen.

In den leichter löslichen Pektinfraktionen fanden sich stets von der primären abweichend zusammengesetzte Pektinsäuren, die offenbar aus der ursprünglichen Pektinsäure in der Pflanze durch fermentativen Abbau entstanden waren. Sie enthielten zumeist einen höheren Prozentsatz an Galakturonsäure und Methylalkohol und zeigten in wechselnden Mengen einen entsprechend niedrigeren Gehalt an Arabinose, Galaktose und Essigsäure. Den relativ höchsten Gehalt an Galakturonsäure und Methylalkohol wiesen die Pektinsäuren der Pektinanteile auf, die schon mit mäßig warmem Wasser aus gut gelierenden Obstfrüchten, wie Johannisbeeren, Erdbeeren usw., zu isolieren waren. In diesen Verbindungen, die Pentosen und Hexosen sowie Acetyl-Gruppen nur in sehr geringen Mengen enthalten, liegen offenbar neben dem Diester hauptsächlich Tri- und Tetramethylester einer komplexen Tetragalakturonsäure vor.

In sämtlichen bisher untersuchten Pektinsäuren bildet jedenfalls die Galakturonsäure stets den Hauptbestandteil und kann daraus durch vorsichtige Hydrolyse mit verdünnter Mineralsäure in Form einer komplexen Verbindung abgespalten werden. Diese jetzt als Pektolsäure[2]) $C_{20}H_{30}O_{17}(COOH)_4$, früher als Tetragalakturonsäure a und c[3]) bezeichnete Substanz ist in Wasser schwer, in Salzsäure unlöslich, reduziert nur schwach und zeigt die sehr hohe Drehung von $[\alpha]_D = +293°$. In dieser Pektolsäure ist ein großes Ringmolekül von vier glykosidisch aneinander gebundenen Molekülen Galakturonsäure anzunehmen, in denen die vier Aldehydgruppen maskiert, die vier Carboxylgruppen aber in freier Form vorzufinden sind. Aus dem Filtrat der Pektolsäure und auch durch weitere Hydrolyse daraus herstellbar ist stets die in Wasser leicht lösliche, mit Alkohol fällbare, früher Tetragalakturonsäure b[3]) genannte Pektolaktonsäure[2]) $C_{20}H_{29}O_{16}\left(\begin{smallmatrix}CO\\O\end{smallmatrix}\right)(COOH)_3$ zu isolieren, die deutlich reduziert und eine schwächere Drehung $[\alpha]_D = +250°$ besitzt. In ihr ist das große in der Pektolsäure ursprünglich vorhandene Ringmolekül der miteinander verbundenen vier Moleküle Galakturonsäure an einer Stelle aufgebrochen, so daß eine offene Kette mit einer freien oder halbacetalartig gebundenen Aldehydgruppe und

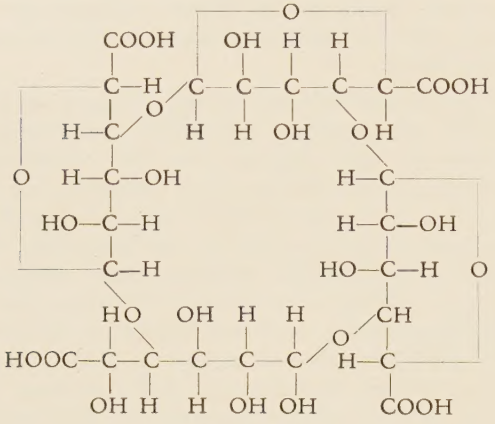
[1]) F. Ehrlich, Chem. Ztg. **41**, 197 (1917). — F. Ehrlich und v. Sommerfeld, Biochem. Z. **168**, 263 (1926). — F. Ehrlich und F. Schubert, Biochem. Z. **169**, 13 (1926). — F. Ehrlich, Ztschr. angew. Chem. **40**, 1305 (1927). — F. Ehrlich und F. Schubert, Ber. Deutsch. Chem. Ges. **62**, 1974 (1929). — F. Ehrlich und A. Kosmahly, Biochem. Z. **212**, 162 (1929). — F. Ehrlich, Cellulosechemie **11**, 140, 161 (1930). — F. Ehrlich in G. Klein, Handb. d. Pflanzenanalyse **3**, 80 (1932).

[2]) F. Ehrlich, Biochem. Z. **250**, 528 (1932). — F. Ehrlich und R. Guttmann, Biochem. Z. **259**, 100 (1933).

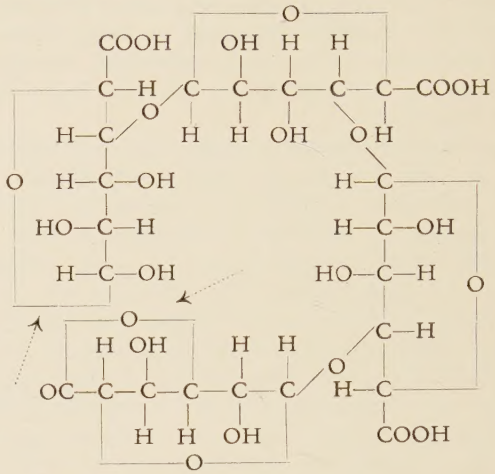
[3]) F. Ehrlich und F. Schubert, Ber. Deutsch. Chem. Ges. **62**, 1974 (1929).

vier Carboxylgruppen entstanden ist, von denen eine in der Laktonform vorliegt.

Die nachfolgenden beiden Formelbilder veranschaulichen den Molekülbau der beiden Tetragalakturonsäuren und machen den leichten Uebergang und den Aufbruch des Ringes der Pektolsäure zu der offenen Kette des Moleküls der Pektolaktonsäure an der durch gestrichelte Pfeile gekennzeichneten Stelle ohne weiteres verständlich.



Pektolsäure



Pektolaktonsäure

Die im vorigen kurz geschilderten bisherigen Ergebnisse der Pektinchemie erweckten nun das Interesse, die Untersuchungen auf weiteres Material auszudehnen und vergleichende Betrachtungen über die Zusammensetzung von Pektinen verschiedener natürlicher Herkunft anzustellen. Im folgenden sei zunächst über die Zusammensetzung eines normalen Fruchtpektins, nämlich des Pektins der Aepfel berichtet, die eine der wichtigsten natürlichen Quellen für diesen Stoff bieten.

Pektin aus Aepfeln.

Nächst den Citrusfrüchten und den Rübenwurzeln sind die Aepfel ein sehr geeignetes Ausgangsmaterial für die Gewinnung von Pektin, das in ihnen sehr reichlich vorhanden ist[4]). Da die Aepfel ähnlich den Citrusarten und im Gegensatz zu den Rüben Pektinauszüge liefern, die mit Zuckersirupen besonders gut gelierende Produkte ergeben, so kommen diese Früchte in Deutschland als einziger Rohstoff für die Pektinindustrie in Betracht, deren Fabriken sich vorwiegend in den Obstgegenden am Main und Rhein befinden. Hier werden die bei der Apfelmostbereitung nach dem Abpressen des Saftes in großen Mengen abfallenden Trester auf flüssige und feste Pektinextrakte verarbeitet, die in der Obstkonservenindustrie und im Haushalt für die Gelierung von Fruchtsäften, Marmeladen, Konditorwaren und für andere Zwecke vielfache Verwendung erfahren. Neuerdings wird das Apfelpektin wegen seines starken Quellungsvermögens auch für medizinische Zwecke benutzt.

Ueber die Pektinstoffe der Aepfel liegen bereits zahlreiche Untersuchungen[5]) vor, die aber zumeist vor der Entdeckung der Galakturonsäure angestellt sind oder diesen Hauptbestandteil nur wenig berücksichtigen. Da sie dementsprechend nur ein sehr unvollkommenes Bild der chemischen Zusammensetzung des Apfelpektins geben, sehen wir hier von einer näheren Besprechung ab.

Gegenüber den bisherigen Arbeiten über Apfelpektin erschien es vor allem von Wichtigkeit ein Bild der ursprünglichen Zusammensetzung des natürlichen Pektins im reifen Apfel zu gewinnen, wie es unbeeinflußt von künstlichen Eingriffen lediglich unter der Einwirkung von fermentativen Vorgängen während des Wachstums der Frucht entstanden ist. Da früher häufig übersehen wurde, daß schon bei der Vorbehandlung der Extraktion der Früchte mit verdünnten Säuren in der Wärme oder mit heißem Wasser unter Druck eine weitgehende chemische Veränderung der nativen Pektinsubstanz eintreten kann, so wurde in den folgenden Untersuchungen besonders darauf geachtet, die einzelnen verschieden löslichen Fraktionen des Apfelpektins möglichst in ihrer ursprünglichen Form nur durch Ausziehen mit reinem Wasser bei allmählich steigenden Temperaturen aus dem zerriebenen schonend getrockneten Fruchtfleisch herauszulösen.

[4]) C. Wehmer (Die Pflanzenstoffe Bd. I, 443 [1929]) gibt den Pektingehalt der frischen Aepfel im Mittel zu 3,18% an bei einem Wassergehalt von 84%. Innerhalb der verschiedenen Sorten von Aepfeln schwankt der Wasser- und Pektingehalt beträchtlich. Nicht ganz verständlich ist, daß Wehmer an derselben Stelle den Pektingehalt im Fleisch reifer Aepfel, das doch den Hauptanteil des Pektins enthält, nur zu 0,4% angibt.

[5]) Braconnot, Ann. Chim. Phys. **28**, 173; **30**, 96 (1825). — Frémy, Ann. Chim. Phys. **24**, 5 (1848). — Tromp de Haas und Tollens, Ann. Chem. **286**, 278, 290 (1895). — Bigelow und Gore, Journ. Amer. Chem. Soc. **28**, 200 (1906); C. **1906** I, 1451. — v. Fellenberg, Biochem. Z. **85**, 45; 118 (1918). — M. H. Carré und D. Haynes, Biochem. Journ. **16**, 704 (1922); C. **1922** II, 1923; Biochem. Journ. **19**, 257 (1925); C. **1925** II, 573. — Tutin, Biochem. Journ. **17**, 319 (1923); C. **1923** III, 1640. E. K. Nelson, Journ. Amer. Chem. Soc. **48**, 2945 (1926). —H. D. Poore, Journ. Frankl. Inst. **199**, 699 (1925); C. **1925** II, 573. — McKinnis, Journ. Amer. Chem. Soc. **50**, 1911 (1928); C. **1928** I, 871. — M. H. Haller, Journ. Agricult. **39**, 739 (1929); C. **1930** I, 1236. — E. M. Widdowson, Ann. Botany **46**, 597 (1932); C. **1932** II, 2754.

Zu diesem Zweck wurde aus reifen Früchten hergestelltes, durch kochenden Alkohol vorgereinigtes Apfelmark, dessen Trockensubstanz 27 bis 35% Galakturonsäure enthielt, nacheinander mit Wasser bei 20, 40, 60, 80 und 100° erschöpfend ausgelaugt. Von dem hierbei insgesamt erhaltenen Hydratopektin gingen 30% schon bei der Extraktion mit kaltem Wasser in Lösung. Diese Menge muß also bereits im Apfelsaft gelöst vorgelegen haben. Mit Wasser von 40° wurden nur 2%, von 60° etwa 11% gelöst, während weiterhin die Hauptmenge bei 80° (27%) und 100° (30%) in Lösung ging. Die bei den einzelnen Temperaturgraden gewonnenen, für sich verarbeiteten Hydratopektine unterschieden sich wesentlich in ihrer quantitativen chemischen Zusammensetzung, besonders in Hinsicht auf ihren Gehalt an Galakturonsäure. Bei 20 bis 60° ergaben sich Pektinfraktionen mit einem Gehalt von 60 bis 65% Galakturonsäure, bei 80° von 45%, bei 100° von nur 30%. In dem vollständig ausgekochten Apfelmark war kein Pektin mehr nachweisbar.

Analog wie bei anderen Pektinarten ließen sich die Hydratopektine aus den Aepfeln durch Entmischen mit 70%igem Alkohol in Araban und das Salz einer Pektinsäure zerlegen. Der Anteil des alkohollöslichen Arabans im Hydratopektin der Aepfel betrug 15 bis 20%, also ähnlich wie im Pektin der Rüben und der Orangen. Die einzelnen Arabane zeigten eine Drehung von $[\alpha]_D = -50°$ bis $-70°$ und ergaben bei der Hydrolyse mit Säuren stark reduzierende rechtsdrehende Lösungen, aus denen bis zu 82% kristallisierte l-Arabinose gewonnen werden konnte.

Die aus den Pektinaten der einzelnen Hydratopektine mit Salzsäure und Alkohol freigemachten und durch Umfällen bis auf hartnäckig anhaftende Farbstoffe und geringe Mengen nicht abtrennbarer Stärke gereinigten Pektinsäuren zeigten ähnliche physikalische und chemische Eigenschaften wie die früher aus anderen Obstfrüchten isolierten Verbindungen. Es handelt sich auch hier um Gemische ursprünglicher und während der Reifung der Aepfel fermentativ veränderter Pektinsubstanzen, über deren Zusammensetzung in den einzelnen Fraktionen die eingehende chemische Untersuchung (vgl. Tabelle 6) ein übersichtliches Bild lieferte. Die aus dem am leichtesten löslichen Pektinat im Apfelsaft gewonnene Pektinsäure wies die höchste Drehung (+ 204,5°) und den höchsten Gehalt an Galakturonsäure (80,9%) und Methylalkohol (11,5%) auf, während sie Essigsäure nur in Spuren und Arabinose und Galaktose in geringsten Mengen enthielt. In den erst bei höherer Temperatur in Lösung gehenden Pektinsäuren nahm die Drehung proportional dem sinkenden Gehalt an Galakturonsäure und Methylalkohol ab. Aus dem erst bei längerem Kochen mit Wasser gelösten Pektinat ergab sich eine Pektinsäure mit niedrigster Drehung (+ 118°) und geringstem Gehalt an Galakturonsäure (53,1%) und Methylalkohol (4,1%), während Arabinose, Galaktose und Essigsäure in entsprechend größeren Mengen darin enthalten waren. Von besonderem Interesse erschien es, daß aus den wässerigen Auszügen bei 80° eine Pektinsäure isoliert werden konnte, die abgesehen von einem geringen Gehalt an Stärke und färbenden Verunreinigungen in allen ihren Eigenschaften und in ihrer Zusammensetzung der primären Pektinsäure aus Rüben und Orangen sehr ähnlich war und bis auf eine etwas größere Differenz im Methoxylgehalt recht gut auf die Bruttoformel $C_{41}H_{60}O_{36}$ stimmende Analysen ihrer einzelnen Komponenten aufwies. Ihr etwas höherer Gehalt an Methylalkohol (10,3%) auf Galakturonsäure bezogen gegenüber dem normalen Quotienten der Diestersäure erklärt sich wohl daraus, daß der Verbindung noch etwas Triestersäure (Quotient 12,4) und vielleicht auch Tetraestersäure (Quotient 16,5) beigemengt war, deren vollständige Abtrennung infolge der fast gleichen Löslichkeitsverhältnisse der Pektinate sich nicht ermöglichen ließ. Am meisten an Triestersäure angereichert zeigte sich die Pektinsäure der am leichtesten löslichen Pektinfraktion im Apfelsaft selbst, deren sehr hoher Methylalkohol-Galakturonsäure-Quotient (14,2) darauf hindeutete, daß hier außer der Triestersäure auch noch ein nicht geringer Teil von Tetramethylester vorlag. In den Fraktionen von 100° war vorwiegend die Diestersäure enthalten, deren Gehalt an Galakturonsäure (53,1 und 56,8%) und an Methylalkohol (4,1%) durch andere beim Auskochen mit in Lösung gegangenen Fremdkörpern (Stärke) heruntergedrückt erschien, während der Quotient der beiden Komponenten (7,2 und 7,7) dem normalen Diesterquotienten sehr nahekam.

Methylpentosen, die v. Fellenberg[5]) im Apfelpektin angenommen hatte, waren in keiner Pektinsäure vorhanden.

Wie bei allen bisher untersuchten Pektinen, außer beim Flachspektin, ließ sich aus den Hydratopektinen sowie aus den pektinsauren Salzen der Aepfel durch Hydrolyse mit 5%iger Salzsäure die Pektolsäure mit guten Ausbeuten und in großer Reinheit darstellen. Sie zeigte die gleichen Eigenschaften wie die Tetragalakturonsäure a und c, die von F. Ehrlich und F. Schubert[6]) aus dem Rübenpektin sowie von F. Ehrlich und A. Kosmahly[7]) aus dem Pektin der Obstfrüchte isoliert waren und die später unter dem Namen Pektolsäure $C_{20}H_{30}O_{17}(COOH)_4$ als identisch befunden wurden[8]). Damit war auch hier bewiesen, daß im Apfelpektin und den daraus isolierten Pektinsäuren eine ringförmig konstituierte Tetragalakturonsäure den Hauptkern des Moleküls bildet. Aus den salzsauren Filtraten der Pektolsäure der Aepfel war ebenso wie aus anderen Pektinen der Obstfrüchte und Wurzeln mit Alkohol in guter Ausbeute die früher Tetragalakturonsäure b genannte, wasserlösliche Pektolaktonsäure $C_{20}H_{29}O_{16}\left(<\!\!\begin{matrix}CO\\O\end{matrix}\right)(COOH)_3$ rein abzuscheiden, die im Gegensatz zu dem Ringe der Pektolsäure aus einer offenen Kette glykosidisch verknüpfter Moleküle Galakturonsäure aufgebaut ist. Bei der Totalhydrolyse mit verdünnter Säure unter Druck erhielt man aus der komplexen Pektolsäure des Apfelpektins dieselbe, früher mehrfach beschriebene kristallisierte α-d-Galakturonsäure.

[6]) Ber. Deutsch. Chem. Ges. **62**, 1974 (1929).
[7]) Biochem. Z. **212**, 162 (1929).
[8]) F. Ehrlich, Biochem. Z. **250**, 528 (1932). — F. Ehrlich und R. Guttmann, Biochem. Z. **259**, 100 (1932).

Als wesentliches Resultat dieser Untersuchungen ergibt sich also, daß das Pektin der reifen Aepfel in vielfacher Hinsicht dem Pektin der früher untersuchten Obstfrüchte und Rübenwurzeln in seiner Zusammensetzung sehr ähnlich ist. Es stellt Gemische dar aus einem ursprünglichen, wasserunlöslichen, wandständigen Pektin mit Pektinverbindungen von verschiedenen Graden der Löslichkeit, die daraus während des Wachstums und Reifens der Aepfel durch einen partiellen fermentativen Abbau entstanden sind. Im Verlaufe der Vegetation haben offenbar auch Methoxylierungen der primären oder partiell abgebauter Pektinsäuren stattgefunden, wobei sich die Diestersäure zum Teil in die Triesterverbindung und vermutlich auch in den Tetramethylester verwandelt hat. Die höchsten Methoxylierungsstufen finden sich gerade in den leichtlöslichen Pektinfraktionen, deren Extrakte ein besonders günstiges Geliervermögen für Zuckersirupe zeigen.

Um Anhaltspunkte für die Fermentwirkungen auf das Pektin im reifenden Apfel zu gewinnen, wurden noch einige Versuche mit einem aus dem Schimmelpilz Penicillium Ehrlichii isolierten Fermentgemisch[9]) angestellt. Das Präparat enthielt mehrere das Pektin lösende und abbauende Fermente wie die Protopektinase, die wasserunlösliches Pektin in lösliches Hydratopektin umwandelt, die Pektolase, die Pektolsäure zu Galakturonsäure aufspaltet, und ferner die Arabanase, die Araban zu l-Arabinose hydrolysiert. Ließ man auf Apfelmark, das von leichtlöslichen Pektinanteilen befreit war, eine wäßrige Lösung dieses Fermentgemisches bei Gegenwart von Toluol einwirken, so gingen beträchtliche Mengen des sonst erst bei 80 und 100° löslichen Pektins schon bei einer Temperatur von 30° in Lösung, wobei im Filtrat stark reduzierende, rechtsdrehende Substanzen auftraten. Die Drehung der Lösung erreichte nach dreitägiger Einwirkung der Fermente ein Maximum, nahm dann langsam ab und blieb vom sechsten Tage an konstant. Der Lösungsvorgang war innerhalb von drei Tagen wesentlich beendet, in dieser Zeit war schon eine Pektinmenge von etwa 30% des vorbehandelten Apfelmarks in Lösung gegangen. Bei Aufarbeitung der bei der Fermenteinwirkung sich ergebenden Extrakte erhielt man wasserlösliche, dem Hydratopektin sehr ähnliche Gemische, die nach dem Trocknen an 70%igem Alkohol etwa 23% dem Araban ähnliche Verbindungen abgaben. Dieses „Araban", das stark reduzierte und rechts drehte, enthielt viel freie Arabinose, die sich offenbar im Verlaufe des Versuches durch Einwirkung des Fermentes Arabanase aus ursprünglich vorhandenem Araban gebildet hatte. Aus der Tatsache, daß die Substanzen des alkoholischen Extraktes außer der Orcin-Reaktion auch die Naphthoresorcin-Reaktion und die rote Blei-Reaktion, wenn auch weniger scharf, gaben, ließ sich folgern, daß darin außerdem noch Galakturonsäure vorhanden sein mußte, die sehr wahrscheinlich durch das Ferment Pektolase aus Pektinsäuren abgespalten war. In größter Menge gingen bei diesen Fermentversuchen jedesmal Salze von Pektinsäuren in Lösung, aus denen in üblicher Weise die freien Säuren isoliert wurden. Bei einem dreitägigen Versuch war eine Pektinsäure von $[\alpha]_D = +158{,}1°$ und einem Galakturonsäuregehalt von 58,2%, nach zehntägiger Fermentwirkung eine Pektinsäure von $[\alpha]_D = +131{,}9°$ und einem Gehalt von 41,8% Galakturonsäure zu gewinnen. Diese fermentativ hergestellten Pektinsäuren verhielten sich also in ihren physikalischen Konstanten ebenso wie in ihren chemischen Eigenschaften sehr ähnlich den oben beschriebenen, die durch Wasser von 80 bis 100° aus Apfelmark ausgezogen waren.

Aus diesen Fermentversuchen, die später noch in verschiedener Richtung zu ergänzen wären, ist jedenfalls so viel zu folgern, daß Schimmelpilzfermente auf das Pektin der Aepfel stark lösend und abbauend wirken. Hierbei wird durch ein Ferment Protopektinase, das in dem angewandten Fermentauszug aus Penicillium Ehrlichii reichlich vorhanden ist, das wasserunlösliche Apfelpektin ähnlich wie bei der Heißwasserhydrolyse in Hydratopektin, d. h. in ein Gemisch von Pektinat und Araban gespalten, worauf dann eine weitere Hydrolyse des Arabans zu l-Arabinose durch das Ferment Arabanase erfolgt. Durch andere nebenher vorhandene Fermente ist dann offenbar auch die ursprünglich in Lösung gegangene Pektinsäure partiell weiter abgebaut worden zu Gemischen von Pektinsäuren, wie sie ähnlich auch aus den Warmwasserextrakten der Aepfel zu gewinnen sind. Bei diesem Abbau ist scheinbar auch die den Komplex der Pektolsäure spaltende Pektolase in gewissem Umfang wirksam.

Wenn auch die Wirkung der Pektinfermente in Schimmelpilzen nicht ohne weiteres mit denen im reifenden Apfel vergleichbar sind, so läßt sich doch aus den Versuchsresultaten so viel entnehmen, daß unter natürlichen Bedingungen enzymatische Vorgänge möglich sind, die analog der Wasser- und Säurehydrolyse auf Pektin lösend und abbauend wirken, und daß solche Fermente im normalen reifenden Apfel vorhanden sind. Es läßt sich vorstellen, daß bei einem Befall der Aepfel durch Schimmelpilze und Bakterien das Weichwerden des Apfelfleisches durch analoge Pektinfermente besonders beschleunigt werden kann. Es wird die Aufgabe künftiger Arbeiten sein, durch Vergleiche der Zusammensetzung des Pektins im unreifen und im reifen Apfel ein genaueres Bild über die Wirkung der Pektinfermente in der Frucht selbst zu gewinnen.

Beschreibung der Versuche.

Als Ausgangsmaterial für die Untersuchung des Apfelpektins diente ein unter dem Namen „Aplona"[10]) im Handel befindliches pulverförmiges Präparat aus getrockneten Aepfeln. Es schien als Untersuchungsmaterial besonders geeignet, da es sich hier um ein homogenes Präparat handelt, das regelmäßig aus frischen Aepfeln möglichst gleichbleibender Sorte in sehr schonender Weise hergestellt wird. Zu diesem Zweck werden beste dünnschalige Aepfelsorten nach Entfernung des Kerngehäuses mit der Schale sehr fein zerkleinert und der erhaltene Apfelbrei wird nach dem bekannten Krauseschen Verfahren durch Zerstäubung bei 35° getrocknet. Man erhält auf diese Weise

[9]) F. Ehrlich, Biochem. Z. 250, 525; 251, 216 (1932). — Siehe auch F. Ehrlich in Abderhalden, Handb. d. biolog. Arbeitsmethoden. Ueber Pektinfermente.

[10]) Das Aplona wurde dem Institut bereitwilligst von der Krause Medico Gesellschaft m. b. H., München, zur Verfügung gestellt, der wir auch an dieser Stelle unseren Dank aussprechen.

ein hellbräunliches Pulver, aus dem die gröberen Schalenteile abgesiebt werden. 100 g Apfelpulver entsprechen nach Angabe der Darsteller einer Ausgangssubstanz von 1000 g frischem Ganzapfel[11]). Der Präparat quillt schon in kaltem Wasser sehr stark auf und schmeckt angenehm wie Apfelmus. Auf dieser eigentümlichen Quellungserscheinung beruht die medizinische Verwendung des Präparates zur Heilung von Darmerkrankungen besonders bei Kindern[11]).

Nach unseren Untersuchungen enthielt das lufttrockene Apfelpulver 5,9 bis 6,2% Wasser. Nach Tollens-Lefèvre mit 12%iger Salzsäure erhitzt spaltete die Substanz 1,29 bis 1,42% CO_2 ab, was einem Gehalt von 5,7 bis 6,3% Galakturonsäure in dem vollkommen getrockneten Apfelpulver entspricht.

Zum qualitativen Nachweis von d-Galakturonsäure diente die charakteristische rote Blei-Reaktion[12]).

3 g lufttrocknes Apfelpulver (Aplona) wurden in 300 ccm 1%iger Schwefelsäure suspendiert und im Autoklaven bei 4 Atü (etwa 145°) 30 Minuten lang erhitzt. Die braune, nach gebackenen Aepfeln riechende Hydrolysenflüssigkeit zeigte nach Filtration eine Drehung von + 0,12° (l = 1). Der abfiltrierte getrocknete Rückstand war braunrot und mit Cellulosefasern durchsetzt (0,4 g d. h. 13,3% des Ausgangsmaterials). Das mit Bariumcarbonat neutralisierte Filtrat wurde mit Tierkohle vollkommen entfärbt und im Vakuum bei 35 bis 40° eingeengt, worauf man es nochmals mit Tierkohle behandelte. Aus einer Probe der farblosen Lösung schied sich mit Bleiessig ein weißer Niederschlag aus, der sich im Ueberschuß des Fällungsmittels fast vollkommen auflöste und beim Erhitzen auf dem Wasserbad durch die Bildung eines deutlich ziegelroten Niederschlages das Vorhandensein von Galakturonsäure anzeigte. Die Hauptmenge des Filtrates ergab eingeengt und mit der fünffachen Menge Alkohol versetzt eine weiße Fällung des Bariumsalzes der Galakturonsäure. Eine Probe des abfiltrierten, gut mit Alkohol gewaschenen und in wenig Wasser gelösten Bariumsalzes zeigte das für die Galakturonsäure typische ziegelrote Bleisalz in noch reinerer Farbtönung wie anfangs.

Apfel-Hydratopektin.

Vorversuch.

50 g lufttrocknes Apfelpulver (Aplona) entsprechend 46,9 g Trockensubstanz wurde zur Entfernung von Saftbestandteilen, Farbstoffen usw. erschöpfend mit 70%igem Alkohol ausgekocht, bis die Auszüge, die zuerst stark links drehten und dunkelbraun gefärbt waren, keine Drehung mehr zeigten und farblos waren. Der schließlich mit 96%igem Alkohol ausgekochte, nach dem Absaugen mit Alkohol und Aether gewaschene Rückstand ergab an der Luft getrocknet ein leichtes, hellbraun gefärbtes Pulver mit 17% Wasser in einer Menge von 9,8 g. Auf die Trockensubstanz des ursprünglichen Apfelmaterials (Aplona) berechnet, beträgt also die Ausbeute an trocknem, von löslichen Saftbestandteilen befreitem Apfelmark 20,6%. Das vollkommen getrocknete Apfelmark wies einen Gehalt von 26,9% Galakturonsäure auf.

Um zunächst einen Vorversuch zur Orientierung über die Löslichkeit des so erhaltenen Apfelmarks in Wasser anzustellen, wurde die vorgereinigte, lufttrockne Apfelmasse einer fraktionierten Auslaugung mit Wasser von 20 bis auf 121° steigenden Temperaturen unterworfen. Es geschah in der Weise, daß man in einem bedeckten Topf 5 g des Materials mit je 500 ccm destilliertem Wasser längere Zeit bei einer bestimmten Temperatur behandelte, das Ganze dann jedesmal durch ein Tuch kolierte, den Rückstand mit Wasser derselben Temperatur nachwusch, die trüben, meist gelblich gefärbten Lösungen durch Filtration über Kieselgur klärte und die einzelnen Auszüge in großen Schalen zur Trockne verdampfte. Die anfangs sehr starke Quellung des Apfelmarks in kaltem Wasser verlor sich in dem Maße wie die Extraktion in immer wärmer werdendem Wasser fortschritt. Die bei niederen Temperaturen erhaltenen Auszüge waren sehr schwer zu filtrieren und zu klären; es ergaben sich immer nur opaleszierende Flüssigkeiten, während bei höheren Temperaturen diese Schwierigkeiten fortfielen. Der letzte Rückstand wurde noch im Autoklaven mit Wasser auf 121° erhitzt. Beim Verdampfen der einzelnen Auszüge verblieb jedesmal ein Hydratopektin in Form von gelb bis bräunlich gefärbten, gelatineartigen, sich leicht von der Schale ablösenden Blättern, die dem Hydratopektin aus Rüben und anderen früher untersuchten Obstfrüchten sehr ähnlich waren.

In der folgenden Tabelle 1 sind die Resultate dieser Untersuchungen übersichtlich verzeichnet.

Die Gesamtausbeute an lufttrocknem Hydratopektin betrug 2,3 g, d. h. 46% des angewandten lufttrocknen Ausgangsmaterials. Bei den Auslaugungen verblieb schließlich in unlöslicher Form nach dem Trocknen an der Luft eine stark zusammengeschrumpfte, tief dunkelbraune, pappenartige Masse im Gewicht von 2,2 g, d. h. 44% der ursprünglichen Ausgangssubstanz. Der Rückstand enthielt 17,5% Wasser, gab nach dem Kochen mit Salzsäure keine Orcin-Reaktion und nur noch eine weinrote Naphthoresorcin-Reaktion. Nach Tollens-Lefèvre mit 12%iger Salzsäure erhitzt, spaltete die vollkommen getrocknete Substanz 0,34% CO_2 ab, entsprechend einem Gehalt von 1,5% Galakturonsäure. Pektin bzw. Galakturonsäure war also darin vermutlich nur noch in Spuren vorhanden, und es schien demnach sämtliches Pektin bei diesen Auslaugungen in die wäßrige Lösung gegangen zu sein.

Aus den Zahlen der Tabelle 1 über die einzelnen Fraktionen der Auslaugungen geht hervor, daß schon in kaltem Wasser etwa 22% des gesamten Apfelpektins in Lösung gegangen ist, und daß diese Menge bereits im Apfelsaft als Hydratopektin vorgelegen haben muß. Die Hauptmenge des Apfelpektins, etwa 36%, löste sich erst bei 80°, worauf dann beim Kochen noch 25% in Hydratopektin umgewandelt in Lösung gingen. Nachdem bei 100° die Extraktion mit Wasser soweit getrieben war, daß in den Auszügen durch Farbreaktionen keine Pektinsubstanz mehr nachweisbar war, ließ sich zeigen, daß selbst bei erhöhtem Druck mit Wasser von 121° nur noch Spuren von Substanzen auslaugbar

[11]) A. Wiskott, Klin. Wschr. 10, 1252 (1931). — G. Malyoth, Klin. Wschr. 10, 1255 (1931); 13, 51 (1934).
[12]) F. Ehrlich. Ber. Deutsch. Chem. Ges. 65, 352 (1932).

Tabelle 1.

5 g lufttrocknes mit Alkohol vorgereinigtes Apfelmark mit je 500 ccm Wasser extrahiert.

Temperatur der Auslaugung bei °C.	20	55 bis 60	80	80	100	100	121; 1 Atü
Dauer der Auslaugung in Stunden	48	4	4	6	11	2	1
α_D^{20} der wäßrigen Extrakte (l=2)	+ 0,28°	+ 0,16°	+ 0,13°	+ 0,10°	+ 0,25°	+ 0,02°	± 0,00°
Orcin-Reaktion	+	+	+	+	+	—	—
Naphthoresorcin-Reaktion	+	+	+	+	+	—	—
Verhalten gegen Lackmus	schwach sauer	schwach sauer	schwach sauer	schwach sauer	schwach sauer	schwach sauer	neutral.
g Hydratopektin lufttrocken	0,48	0,38	0,52	0,27	0,47	0,10	0,08
			0,79		0,57		
g Hydratopektin trocken	0,45	0,35	0,73		0,51		
% Ausbeute an trockenem Hydratopektin aus trockenem Apfelmark	10,8	8,4	17,6		12,3		
% Hydratopektin bez. auf die Gesamtausbeute an Hydratopektin	22,1	17,1	35,8		25,0		
% Galakturonsäure im trockenen Hydratopektin	65,7	60,1	45,1		30,1		
% Galakturonsäure bez. auf den Gesamtgehalt im Apfelmark	25,9	18,7	29,4		14,3		

waren, die aber wohl nur aus Zersetzungsprodukten bestanden und kein Pektin enthielten.

Die Zahlen für den Galakturonsäuregehalt zeigen, daß der leicht in Lösung gehende Pektinanteil viel mehr Galakturonsäure enthielt als der schwer lösliche. Die Hydratopektine der bei verschiedenen Temperaturen erhaltenen Auszüge unterscheiden sich offenbar wesentlich durch ihre chemische Zusammensetzung. Es erschien daher wichtig an einer größeren Materialmenge genauere Untersuchungen über die Chemie des verschieden löslichen Apfelpektins und der aus den einzelnen Auszügen des Hydratopektins isolierten Pektinsäuren anzustellen.

Hydratopektin A.

Zu diesem Zweck wurde eine größere Menge Apfelpulver (Aplona) aufgearbeitet. Nach Auslaugen mit 70%igem Alkohol in der schon vorher beschriebenen Weise wurden aus 2 kg Aplona 393,2 g, d. h. 19,7% leicht hellbraun gefärbtes, lockeres lufttrocknes Apfelmark mit einem Wassergehalt von 8,9% und einem Galakturonsäuregehalt der vollkommen getrockneten Substanz von 27,1% gewonnen. Die Gewinnung des Hydratopektins gestaltete sich genau wie im Vorversuch beschrieben, nur wurde bei Zimmertemperatur das lufttrockne Apfelmark (100 g) mit 2 Liter destilliertem Wasser angerührt und nach 20stdg. Stehen

Tabelle 2.

100 g lufttrocknes mit Alkohol vorgereinigtes Apfelmark mit je 2 Liter Wasser extrahiert. (Hydratopektin A.)

Temperatur der Auslaugung in °C	Dauer der Auslaugung in Stunden	α_D^{20} der wäßrigen Extrakte (l=2)	Reaktionen: Orcin	Reaktionen: Naphthoresorcin	Verhalten gegen Lackmus	g Hydratopektin lufttrocken		Ausbeute an Hydratopektin in % des trocknen Apfelmarks	% Hydratopektin der Einzelfraktionen in bezug auf die Gesamtmenge
20	24	+ 1,59°	+	+	schwach sauer	6,8			
20	2	+ 0,75°	+	+	„ „	4,5	13,1	14,4	30,4
20	2	+ 0,18°	+	+	„ „	1,8			
40	3	+ 0,10°	+	+	„ „	0,85		0,9	2,3
60	3	+ 0,36°	+	+	„ „	2,3			
60	3	+ 0,16°	+	+	„ „	1,7	5,1	5,6	11,4
60	3	+ 0,11°	+	+	„ „	1,1			
80	3	+ 0,58°	+	+	„ „	4,3			
80	3	+ 0,28°	+	+	„ „	1,7			
80	3	+ 0,25°	+	+	„ „	1,3			
80	4	+ 0,16°	+	+	„ „	1,2	11,7	12,8	26,5
80	4	+ 0,14°	+	+	„ „	1,2			
80	4	+ 0,13°	+	+	„ „	1,1			
80	4	+ 0,08°	+	+	„ „	0,9			
100	4	+ 0,26°	+	+	„ „	4,2			
100	4	+ 0,22°	+	+	„ „	2,3			
100	4	+ 0,14°	+	+	„ „	2,1			
100	4	+ 0,08°	+	+	„ „	1,9	13,0	14,1	29,4
100	3	+ 0,07°	+	+	„ „	1,3			
100	3	+ 0,07°	+	+	„ „	0,8			
100	3	+ 0,03°	—	—	neutral	0,4			

auf der Schüttelmaschine geschüttelt, bis das Filtrat keine Drehungszunahme mehr zeigte.

Eine übersichtliche Zusammenfassung über den Verlauf der Auslaugung ergibt sich aus der vorgehenden Tabelle 2.

Die Gesamtausbeute an lufttrocknem Hydratopektin betrug 43,8 g, d. h. 48,1% des angewandten trocknen Apfelmarks.

Wie aus der Tabelle 2 ersichtlich, wurden die einzelnen Auszüge noch sorgfältiger bereitet als im Vorversuch. Bei den verschiedenen Temperaturen von 20, 40, 60, 80 und 100° wurde die Apfelmasse mit immer frisch erneuertem Wasser so lange ausgezogen, bis relativ nur noch geringe Mengen von Substanz in Lösung gingen. Sehr deutlich war die Erscheinung, daß bei Steigerung der Auslaugungstemperatur das Pektin jedesmal wieder viel leichter in Lösung ging als bei der vorher angewandten niedrigeren Temperatur, was schon aus der stark erhöhten Drehung und Trockensubstanz der Extrakte hervorging. Im Endeffekt waren nach sieben Auskochungen mit einer jedesmal erneuerten gleichbleibenden Wassermenge nur noch schwach rechtsdrehende Extrakte zu erhalten, die keine Reaktionen mehr auf Galakturonsäure und Pektin gaben.

Nach dem Auslaugen verblieb ein Rückstand, der dasselbe Aussehen zeigte wie die im Vorversuch beschriebene Substanz. Er wog, an der Luft getrocknet, 39,9 g, d. h. 43,8% des angewandten vollkommen getrockneten Apfelmarks, enthielt 12,6% Wasser und scheinbar 1,3% Galakturonsäure. Nach dem Erhitzen mit Salzsäure gab er aber keine Orcin-Reaktion mehr und nur eine weinrote Naphthoresorcin-Reaktion.

Hydratopektin B.

In diesem Fall wurde eine größere Menge Apfelpulver (Aplona) nach einem etwas abgeänderten Verfahren verarbeitet.

Das zur Verarbeitung gelangende, im Februar 1932 bezogene Apfelpulver (Aplona) hatte einen Wassergehalt von 5,9% und einen Galakturonsäuregehalt von 5,9% in der vollkommen getrockneten Substanz. Bei der Auslaugung mit 70%igem Alkohol erhielt man aus 1800 g Apfelpulver 322,7 g lufttrocknes Apfelmark (mit 13,9% Wasser), d. h. eine Ausbeute von 17,9%. Das vollkommen bei 78° im Vakuum getrocknete Apfelmark enthält 35,2% Galakturonsäure, d. h. etwa 8% mehr als das früher bezogene Aplona (August 1931), trotzdem die Proben des Apfelpulvers annähernd gleichen Wasser- und Galakturonsäuregehalt aufwiesen. Der scheinbare Widerspruch erklärt sich daraus, daß dieses Mal mehr lösliche Stoffe in den 70%igen Alkohol übergingen.

Das mit Alkohol vorgereinigte lufttrockne Apfelmark wurde im vorliegenden Fall nur auf das bei 60, 80 und 100° in Lösung gehende Hydratopektin verarbeitet.

300 g lufttrocknes Apfelmark (entsprechend 258,1 g Trockensubstanz) wurden mit je 10 Liter Wasser viermal je eine Stunde bei 60° ausgelaugt. Daran schlossen sich je 6 Extraktionen mit jedesmal frisch erneuertem Wasser bei 80° und endlich bei 100°. In jedem einzelnen Fall wurden die betreffenden Auszüge im Vakuum bei 40 bis 50° zur Trockne verdampft. Man erhielt auf diese Weise viel heller gefärbte Hydratopektine als beim Eindampfen der Extrakte bei gewöhnlichem Druck. Insgesamt wurden 140,5 g lufttrocknes Hydratopektin, d. h. 46,8% bezogen auf lufttrocknes und 54,3% bezogen auf vollkommen getrocknetes Apfelmark, gewonnen, Die Ausbeute ist also nicht wesentlich verschieden von der des Hydratopektins A.

Die nachfolgende Tabelle 3 gibt die Ergebnisse der Auslaugung wieder, die unter ähnlichen Erscheinungen verlief, wie sie oben geschildert sind.

Fremdbestandteile der Hydratopektine.

Die, wie oben beschrieben, aus dem Aplona hergestellten Hydratopektine sind naturgemäß als Rohprodukte anzusprechen, die hauptsächlich wohl aus Pektinsubstanz bestehen, nebenher aber unvermeidbar noch bestimmte Verunreinigungen enthalten. Zu diesen Beimengungen, die vorläufig nicht abtrennbar waren und nicht weiter untersucht wurden, gehören außer karamelartigen Zersetzungsprodukten gewisse bräun-

Tabelle 3.

300 g lufttrocknes, mit Alkohol vorgereinigtes Apfelmark mit je 10 Liter Wasser extrahiert (Hydratopektin B).

Temperatur der Auslaugung °C	Dauer der Auslaugung i. Std.	α_D^{20} der wäßrigen Extrakte (l = 2)	Reaktionen: Orcin	Reaktionen: Naphthoresorcin	Verhalten gegen Lackmus	g Hydratopektin lufttrocken		Ausbeute an Hydratopektin in % des trocknen Apfelmarkes	% Hydratopektin d. Einzelfraktionen, bezogen auf d. Gesamtmenge
60	1	+ 0,80°	+	+	schwach sauer	25,0			
60	1	+ 0,37°	+	+	„ „	16,4	56,6	21,9	40,3
60	1	+ 0,32°	+	+	„ „	11,2			
60	1	+ 0,18°	+	+	„ „	4,0			
80	1	+ 0,30°	+	+	„ „				
80	1	+ 0,28°	+	+	„ „	24,4			
80	1	+ 0,23°	+	+	„ „		41,5	16,1	29,7
80	1	+ 0,18°	+	+	„ „	12,1			
80	1	+ 0,10°	+	+	„ „	3,0			
80	1	+ 0,06°	+	+	„ „	2,0			
100	1	+ 0,25°	+	+	„ „				
100	1	+ 0,11°	+	+	„ „	18,1			
100	1	+ 0,09°	+	+	„ „				
100	1	+ 0,08°	+	+	„ „	14,3	42,4	16,3	30,0
100	1	+ 0,07°	+	+	„ „	7,0			
100	1	+ 0,03°	+	+	„ „	3,0			

liche Farbstoffe. Sie sind im wesentlichen schon bei der Zerkleinerung der frischen Aepfel aus gerbstoffartigen Chromogenen durch Autoxydation entstanden und in die wäßrigen Extrakte mit übergegangen. Außerdem kommt noch in Betracht, daß Reste von Tannin, Eiweißstoffen und anderen kolloidalen Substanzen vom Pektin zum Teil adsorbiert werden. Diese, die Lösungen stark trübenden und färbenden Substanzen waren auch bei weiteren Reinigungen der Pektinstoffe nur sehr schwer abzutrennen und wurden zum Teil auch bei wiederholten Umfällungen mit niedergerissen, so daß auch kleine Mengen davon in den Endpräparaten, den Pektinsäuren, vorhanden waren. Erst die weitergehende Behandlung mit Säuren, wie sie für die Darstellung der Pektolsäure und der d-Galakturonsäure erforderlich war, führte zur vollständigen Beseitigung dieser Beikörper.

In stark wechselnden, aber geringen Mengen fand sich in dem Apfelpulver (Aplona) Stärke vor, die mikroskopisch und durch die Jodreaktion nachweisbar war[13]).

Das nach Angabe der Darsteller aus reifen Aepfeln hergestellte Apfelpulver enthielt in einer Probe, nach dem kolorimetrischen Verfahren von H. Eckart[14]) in Calciumchloridlösung untersucht, 0,83% Stärke. Die bei niederen Temperaturen bis 60° erhaltenen Extrakte erwiesen sich als stärkefrei. Dagegen war ein teilweiser Uebergang der Stärke in die bei 80 und 100° gewonnenen Hydratopektine nicht zu vermeiden. Auch die daraus abgeschiedenen Pektinsäuren wiesen in einzelnen Fällen eine Anreicherung der Stärke bis zu 5% auf. Versuche, die Stärke vor der Extraktion mit Wasser von 80 bis 100° durch längere Behandlung mit Diastase (bei optimaler Temperatur von 55 bis 60°) erst vollständig zu entfernen, gelangen nur unvollkommen, da die gröberen Teile der Apfelmasse darin eingebettete Stärkekörnchen hartnäckig zurückhielten, die dann erst durch längere Behandlung mit heißem Wasser langsam in Lösung gehen. Da die Versuche mit Diastase nicht die gewünschte Wirkung zeitigten, vielmehr zu befürchten war, daß durch das Ferment Fremdkörper in die Lösung gelangten und auch eine Veränderung des Pektins durch das Fermentgemisch eintreten konnte, wurde bei den Hauptversuchen auf die Anwendung von Diastase zur Lösung etwa vorhandener Stärke verzichtet und die Extraktion weiter in der oben beschriebenen Weise allein mit Wasser durchgeführt. Wie sich später gezeigt hat, beeinflussen die kleinen Mengen von Stärke, die bei den Fällungen bis in die Endprodukte mitgeschleppt werden, die Analysen der letzthin erhaltenen Pektinsäuren nur unwesentlich.

Zerlegung des Hydratopektins aus Aepfeln in Araban und Salze der Pektinsäuren.

Hydratopektin A.

Die feingepulverten lufttrocknen Hydratopektine der einzelnen Auszüge (mit Wasser von 20 bis 100°) wurden jedes für sich in der 20fachen Menge 70%igen Alkohols suspendiert und unter wiederholter Beobachtung der Drehung im Filtrat und unter häufigem Umrühren etwa 48 Stunden stehen gelassen. Die alkoholischen Filtrate, in die das Araban übergegangen war, waren alle tief braun gefärbt und zeigten mehr oder weniger starke Linksdrehung. Aenderte sich die Drehung nicht mehr, so versetzte man die Rückstände nach dem Absaugen mit frischem 70%igem Alkohol, der sich meistens nicht mehr färbte und auch keine Drehung mehr zeigte. Nach einstündigem Erhitzen der schließlich verbleibenden Rückstände auf dem Wasserbad mit 70%igem Alkohol unter Rückflußkühlung ergaben sich nur schwach gefärbte Filtrate, die keine oder nur geringe Rechtsdrehung zeigten. Die bei 80 und 100° gewonnenen Hydratopektine behandelte man nur in der Kälte mit 70%igem Alkohol. Die Salze der Pektinsäuren, die als graubraun gefärbte Rückstände ungelöst in 70%igem Alkohol blieben, wurden nach dem Absaugen mit Alkohol und Aether gewaschen und bei 110° getrocknet.

Die das Araban enthaltenden dunkelbraunen alkoholischen Lösungen wurden jede für sich zunächst im Vakuum bei 35 bis 40° und dann auf dem Wasserbad zur Trockne verdampft. Man erhielt daraus tief dunkelbraun gefärbte, sirupöse Rückstände. Sie gaben alle starke Orcinreaktion, enthielten also Pentosen. Sie zeigten Linksdrehung und reduzierten Fehlingsche Lösung nur schwach beim Erwärmen. Mit verdünnter Schwefelsäure erhitzt, steigerte sich das Reduktionsvermögen beträchtlich und die Linksdrehung ging in Rechtsdrehung über. Es war eine Hydrolyse des Arabans zu l-Arabinose eingetreten, wie sie später bei der genaueren Untersuchung eines Arabans noch gezeigt wird.

In der folgenden Tabelle 4 sind die Ausbeuten an Salzen der Pektinsäuren und an Araban aus den einzelnen früher erhaltenen Fraktionen des Hydratopektins zusammengestellt.

Tabelle 4.

Ausbeute an Salzen der Pektinsäuren und Araban im Hydratopektin A aus Aepfeln.

Wäßriger Extrakt, ausgezogen bei °C	20°	40°	60°	80°	100°
g angewandtes lufttrocknes Hydratopektin..	13,0	0,8	5,0	11,7	13,0
% Wasser im Hydratopektin	8,36	4,48	6,11	5,89	7,23
g pektinsaures Salz, bei 110° getrocknet.....	9,8	0,65	3,7	9,3	10,2
% pektinsaures Salz, bezogen auf trocknes Hydratopektin	82,4	85,5	78,7	84,5	84,3
% Araban im Hydratopektin (ber. aus Differenz)	17,6	14,5	21,3	15,5	15,7

Die Versuche zeigen, daß im Hydratopektin der Aepfel die Menge an Araban etwa 15 bis 20% beträgt und die Menge des Pektinats 80 bis 85%. Das sind sehr ähnliche Mengenverhältnisse, wie sie auch im Pektin der Rüben und der Orangenschalen gefunden worden sind[15]).

[13]) Nach C. Wehmer (Die Pflanzenanalyse, Bd. I, 443 [1929]) ist Stärke in reifen Aepfeln nur in Spuren vorhanden, während in unreifen Aepfeln mehrere Prozent davon vorkommen können.

[14]) H. Eckart, Z. „Chemie d. Zelle u. Gewebe" XII, 224 (1925).

[15]) F. Ehrlich u. R. v. Sommerfeld, Biochem. Z. **169**, 13 (1926). — F. Ehrlich und A. Kosmahly, Biochem. Z. **212**, 126 (1929).

Hydratopektin B.

In derselben Weise, wie unter Hydratopektin A beschrieben, wurden die feingepulverten lufttrocknen Hydratopektine der wäßrigen Auszüge 80 und 100° jedes für sich in der 20fachen Menge 70%igen Alkohols in pektinsaures Salz und in Araban zerlegt.

Die nachfolgende Tabelle 5, in der die Ausbeuten an Araban und Pektinat zusammengestellt sind, zeigt fast die gleichen Mengenverhältnisse, wie oben beschrieben.

Tabelle 5.
Ausbeute an Pektinat und Araban im Hydratopektin B aus Aepfeln.

Wäßriger Extrakt, ausgezogen bei °C	80	100
g angewandtes trocknes Hydratopektin	36,8	38,4
α_D^{20} des 70 proz. alkoholischen Filtrats (l=1)	— 1,17°	— 0,78°
g pektinsaures Salz, getrocknet bei 110°	30,6	32,9
% Pektinat im trocknen Hydratopektin	83,2	85,7
g Araban als Sirup, über Schwefelsäure im Vakuum getrocknet	6,3	5,6
% Araban als Sirup aus trocknem Hydratopektin	17,1	14,6

Die nähere Untersuchung der Arabane wird später beschrieben.

Darstellung der freien Pektinsäuren aus Apfelpektin.

Zu diesem Zweck suspendierte man die feingepulverten Pektinate aus den einzelnen Auszügen jedes für sich in der 20fachen Menge salzsäurehaltigen Alkohols, der aus 80 Teilen 96%igem Alkohol und 20 Teilen 10%iger Salzsäure gemischt war, längere Zeit unter häufigem Umrühren. Der Alkohol färbte sich bald hellbraun, zeigte aber keine Drehung. Nach 48 Stunden wurde der ungelöste Rückstand abgesaugt, gut mit salzsäurehaltigem und mit gewöhnlichem Alkohol gewaschen und von neuem in Alkohol-Salzsäure suspendiert, der sich dann in den meisten Fällen kaum noch verfärbte. Das erste salzsaure alkoholische Filtrat des pektinsauren Salzes aus dem bei 20° ausgelaugten Hydratopektin wurde in einer Platinschale auf dem Wasserbad vorsichtig zur Trockne verdampft, der sich stark schwärzende Rückstand mehrere Stunden bis zur Gewichtskonstanz bei 110° getrocknet und dann verascht.

0,4913 g Rückstand ergaben 0,2002 g rotbraun gefärbte Carbonatasche entsprechend 40,75% des Rückstandes und 2,0% des angewandten Pektinates.

Zusammensetzung der Carbonatasche.

Angewandt: 0,2002 g Asche.

Gef.: 0,0030 g SiO_2 ..... = 1,5%
0,0295 g Fe_2O_3 + Al_2O_3 ..... = 14,8%
0,0471 g $Mg_2P_2O_7$ oder 0,0357 g $MgCO_3$ = 17,9%
0,0409 g CaO oder 0,0731 g $CaCO_3$ = 36,5%

Wie dies auch bei früheren Analysen anderer Obstpektinarten beobachtet wurde[16]), enthalten die Pektinate aus Aepfeln zum überwiegenden Teil Calcium und Magnesium, daneben in nicht unbeträchtlichen Mengen auch Eisen und Aluminium, die sonst nur in Spuren gefunden worden waren.

[16]) F. Ehrlich u. A. Kosmahly, Biochem. Z. 212, 162 (1929).

Die gut mit salzsäurehaltigem Alkohol nachgewaschenen Pektinsäuren wurden so oft in 96%igem Alkohol suspendiert und wieder abgesaugt, bis die Filtrate salzsäurefrei waren. Nach dem Absaugen wurden die Pektinsäuren noch gut mit Aether gewaschen, trocken verrieben und bei 110° vollständig getrocknet. Die so erhaltenen Rohprodukte der Pektinsäuren waren alle hellbraun gefärbt und noch aschehaltig. Ihre Ausbeuten betrugen etwa 80 bis 95% auf das angewandte Pektinat berechnet.

Zur weiteren Reinigung wurden die rohen Pektinsäuren unter gelindem Erwärmen in der etwa 10fachen Menge Wasser gelöst. Man erhält so dickflüssige, dunkelbraun gefärbte, trübe, gegen Lackmus sauer reagierende Lösungen, die mit Kieselgur und Tierkohle geklärt wurden. Die Filtration dieser Pektinsäurelösungen gestaltete sich sehr schwierig. Da die viskosen Flüssigkeiten über Saftfilter nur sehr langsam abtropften, wurden die Lösungen über Kieselgur auf der Nutsche abgesaugt, was eine ziemliche Zeitersparnis bedeutete, trotzdem auch hierbei die Filter öfters gewechselt werden mußten. Zur Erlangung von durchsichtig klaren Filtraten mußte das Absaugen über Kieselgur mehrmals wiederholt werden. Die hellbraunen, durchsichtig klaren Filtrate wurden nunmehr im Vakuum bei 35 bis 40° eingeengt. Da sie sich hierbei wieder trübten, mußten sie nochmals über Kieselgur klar filtriert werden. Die klaren, konzentrierten Lösungen ließ man nach Zusatz von etwa 5 ccm konz. Salzsäure pro Liter langsam in das fünffache Volumen 96%igen Alkohols eintropfen, wobei die Pektinsäuren in gallertartigen, bräunlich gefärbten Flocken ausfielen. Die abgesetzten Niederschläge wurden zunächst auf Saftfilter gebracht, mit salzsäurehaltigem Alkohol nachgewaschen, dann mehrmals in gewöhnlichem Alkohol suspendiert, filtriert und so lange gründlich mit Alkohol nachgespült, bis das Filtrat salzsäurefrei ablief. Schließlich waren die zuerst stark gequollenen Pektinsäuren derartig zusammengeschrumpft, daß man sie auf der Nutsche absaugen und vollständig mit Alkohol und Aether auswaschen konnte. Die derartig gereinigten, trocken verriebenen Pektinsäuren waren hellbräunlich gefärbte, lockere Pulver, die in Wasser langsam aufquollen und sich fast klar zu einer schwach sauren, gelbbräunlichen Lösung lösten. Ihre bräunliche Farbe ließ sich auch durch mehrmaliges Umfällen nicht entfernen, da der ursprünglich durch Autoxydation aus Substanzen der zerriebenen Aepfel entstandene rostbraune Farbstoff den Pektinsäuren hartnäckig anhaftete. Es wurde daher nur bei den Pektinsäuren, die besonders aschehaltig waren, eine mehrfache Umfällung vorgenommen.

Die so gewonnenen Pektinsäuren wurden zur Analyse ihrer einzelnen Bestandteile im Vakuum über P_2O_5 bei 78° bis zur Gewichtskonstanz getrocknet. So weit die Substanz reichte, wurden die folgenden Bestimmungen nach den früher angegebenen Methoden[17]) ausgeführt:

Asche, Azidität, spezifische Drehung, Galakturonsäure, Methylalkohol, Arabinose, Galaktose, Essigsäure und Elementaranalyse.

[17]) F. Ehrlich und A. Kosmahly, Biochem. Z. 212, 163 (1929). — F. Ehrlich und F. Schubert, Ber. Deutsch. Chem. Ges. 62, 1974 (1929). — F. Ehrlich in G. Klein, Handbuch der Pflanzenanalyse, Bd. III, S. 121 ff. (1932).

Die Reduktion der Pektinsäuren gegen Fehlingsche Lösung war nur sehr gering. Die bei 20° extrahierte Pektinsäure reduzierte pro Gramm 66,9 mg Cu entspr. 34 mg Glykose, die bei 100° aus Hydratopektin B extrahierte Pektinsäure reduzierte 72,2 mg Cu entspr. 36,4 mg Glykose.

Eine Uebersicht über die Zusammensetzung der aus den einzelnen Hydratopektinen isolierten und soweit wie möglich gereinigten Pektinsäuren gibt die folgende Tabelle 6.

Sie wurde in dieser Form zu folgenden Bestimmungen verwendet:

Asche: 0,2295 g Sbst.; 0,0031 g = 1,35 % Carbonatasche.

Arabinose nach Krüger-Tollens-Kröber: 0,4001 g Sbst.; 0,3188 g Furfurolphloroglucid. Gef.: 0,3607 g oder 90,2 % Arabinose.

Spezifische Drehung: 0,1683 g Sbst. in 10 ccm Wasser gelöst. Braune, etwas trübe Lösung, die klar filtriert wurde.

$c = 1{,}683$; $l = 0{,}5$; $\alpha_D^{20} = -0{,}58°$; $[\alpha]_D^{20} = -68{,}9°$

Tabelle 6.

Zusammensetzung der Pektinsäuren aus verschiedenen Fraktionen des Apfelpektins. 100 g mit Alkohol vorbehandeltes lufttrocknes Apfelmark mit je 2 Liter Wasser extrahiert. (Hydratopektin A.)

Pektinsäure aus Hydratopektin, ausgezogen bei ° C	20	40	60	80	80[1])	100	100[1])	Für primäre Pektinsäure $C_{41}H_{60}O_{36}$ ber.
g Pektinsäure, gereinigt und trocken	5,3	0,19	2,1	4,9	12,6	4,3	12,0	
Spezifische Drehung $[\alpha]_D^{20}$	+ 204,6°	+ 189,6°	+ 198°	+ 167°	+ 163,8°	+ 118°	+ 130,4°	
Galakturonsäure %	80,9	—	80,5	71,9	66,7	53,1	57,0	67,9
Methylalkohol %	11,5	—	10,2	7,4	6,9	4,1	4,1	5,7
Essigsäure %	0,2	—	—	—	10,4	—	9,8	10,6
Arabinose %	5,5	—	5,4	10,1	14,1	15,0	15,1	13,6
Galaktose %	—	—	—	—	15,4	—	12,7	15,9
1 g Pektinsäure neutralisiert ccm n/10 NaOH	9,5	13,1	10,9	11,0	10,6	8,5	6,9	17,3
Asche %	0,93	—	0,96	0,61	0,21	1,35	0,33	
Auf aschefreie Substanz bez. % C	—	—	—	—	43,5	—	43,2	43,3
Auf aschefreie Substanz bez. % H	—	—	—	—	5,3	—	5,2	5,3
Methylalkohol in % auf Galakturonsäure ber.	14,2	—	12,7	10,3	10,3	7,7	7,2	8,25

— nicht bestimmt.

[1]) Aus Hydratopektin B nebenher zum Vergleich hergestellt. Die betreffenden Pektinsäuren waren durch mehrmaliges Umfällen weiter gereinigt.

Araban aus Hydratopektin von Aepfeln.

Die wie oben beschrieben aus den Extraktionen der Hydratopektine mit 70%igem Alkohol gewonnenen sirupösen Auszüge enthielten stets ein als Araban zu bezeichnendes Polysaccharid in wechselnden Mengen und in verschiedenen Reinheitsgraden.

Im folgenden wurden die in größeren Mengen aus Hydratopektin B dargestellten Arabane einer näheren Untersuchung unterzogen. Wie schon früher gezeigt, wiesen auch diese Arabane eine starke Orcinreaktion auf, reagierten gegen Lackmus sauer, reduzierten Fehlingsche Lösung in der Kälte nicht und beim Erhitzen nur wenig. Nach Kochen mit verdünnter Schwefelsäure, wobei Hydrolyse zu l-Arabinose erfolgte, trat eine sehr starke Reduktion der Lösungen auf.

Araban aus Hydratopektin B (Auszug bei 80°).

Zur quantitativen Untersuchung wurde in einem Falle der aus dem Hydratopektin B von den Auszügen bei 80° erhaltene Arabansirup zur weiteren Reinigung zunächst in wenig Wasser gelöst, die Lösung über Kieselgur klar filtriert und das Filtrat auf dem Wasserbad eingeengt. Man erhielt einen dunkelbraun gefärbten Sirup, der bei weiterem Trocknen im Vakuum über Schwefelsäure langsam erhärtete. Die bräunliche, krustenartige pulverisierte Masse verlor beim Trocknen im Vakuum über P_2O_5 bei 78° noch 6,91% Wasser.

Hydrolyse des Arabans: 2,0 g trocknes Araban wurde in 200 ccm 1%iger Schwefelsäure auf dem Wasserbad unter Rückfluß erhitzt. Von Zeit zu Zeit beobachtete man die Drehungsänderung und bestimmte das Reduktionsvermögen nach der Methode von Bertrand. Die Resultate dieser Bestimmungen gibt die folgende Tabelle 7 in einer übersichtlichen Zusammenstellung wieder.

Tabelle 7.

Verlauf der Hydrolyse des Arabans aus Hydratopektin B (Auszug bei 80°)

Zur Bestimmung der Reduktion nach Bertrand waren jedesmal 5 ccm Hydrolysenflüssigkeit angewandt worden.

Dauer der Hydrolyse in Stdn.	α_D^{20} (l=0,5) im Hydrolysat	$[\alpha]_D^{20}$ auf ursprüngliches Araban bezogen	Reduktion mg Cu.	mg Arabinose	% Arabinose auf urspr. Araban ber.
0	— 0,28°	— 56°	5,5	2,5	5,0
1	+ 0,30°	+ 60°	75,8	37,1	74,2
2	+ 0,36°	+ 72°	78,0	38,2	76,4
4	+ 0,44°	+ 88°	81,3	40,0	80,0
6	+ 0,48°	+ 96°	89,1	44,0	88,0
8	+ 0,48°	+ 96°	89,6	44,1	88,2

Die Hydrolyse war bereits nach 6stündigem Erhitzen vollständig. Da die spezifische Drehung der reinen l-Arabinose + 105° beträgt, so läßt sich aus der Enddrehung der hydrolysierten Lösung ein Gehalt von

91,4% l-Arabinose in dem trocknen Araban berechnen. Mit dieser Zahl stimmen die aus der Furfurolbestimmung nach Krüger-Tollens-Kröber und aus der Bertrand-Titration erhaltenen Werte (90,2 bzw. 88,2) leidlich gut überein. Das isolierte „Araban" besteht zum größten Teil aus einem polymeren Arabinoseanhydrid. Der Restbetrag ist, wie schon die Farbe der ursprünglichen Sirupe andeutete, auf Verunreingungen zurückzuführen.

Zur Gewinnung der kristallisierten l-Arabinose aus Araban wurde die mit Schwefelsäure hydrolysierte Lösung unter Erwärmen mit Bariumcarbonat neutralisiert und das braune Filtrat mit Tierkohle behandelt, wodurch es sich vollkommen entfärbte. Das farblose Filtrat verdampfte man im Vakuum bei 35 bis 40° zur Trockne und zog den Rückstand auf dem Wasserbad mit heißem 90%igem Alkohol aus, wobei fast volkommene Lösung eintrat. Die klare alkoholische Lösung engte man im Vakuum zum Sirup ein, der beim Behandeln mit 90%igem Alkohol in der Kälte bis auf eine kleine Trübung in Lösung ging. Aus dem klaren, im Vakuum wieder eingeengten Filtrat ergab sich ein fast klarer Sirup, der schon spontan nach dem Reiben reichliche Kristallbildung zeigte. Die auskristallisierte l-Arabinose wurde nach längerem Stehen abgesaugt, mit Alkohol und Aether gewaschen und im Vakuum über Schweselsäure getrocknet. Im ganzen wurden 1,4 g, d. h. 82,4% l-Arabinose auf Araban gerechnet, gewonnen. Die so gewonnene Arabinose gab eine starke Orcinreaktion.

Spezifische Drehung: 0,1704 g (im Vakuum über Schwefelsäure getrocknete) l-Arabinose in 10 ccm Wasser gelöst. $l = 1$; $c = 1{,}704$.

Anfangsdrehung: $\alpha_D^{20} = +2{,}78°$; $[\alpha]_D^{20} = +163{,}1°$.
Enddrehung: $\alpha_D^{20} = +1{,}76°$; $[\alpha]_D^{20} = +103{,}3°$.

Araban aus Hydratopektin B (Auszug bei 100°).

Auch dieser in Form eines braunen Sirups erhaltene Araban-Auszug besaß dieselben Eigenschaften wie der oben beschriebene und gab auch die gleichen Reaktionen.

Der aus 42,0 g Hydratopektin erhaltene und wie oben angegeben nochmals geklärte Sirup wurde beim Trocknen im Vakuum über Schwefelsäure in eine braune pulvrige Masse verwandelt, die 5,6 g wog. Zur Analyse trocknete man die Substanz im Vakuum über P_2O_5 bis zur Gewichtskonstanz bei 78°.

Asche: 0,2446 g Sbst.; 0,0042 g entspr. 1,72% Asche.

Spezifische Drehung: 0,1473 g Sbst. in 10 ccm Wasser gelöst $c = 1{,}473$; $l = 0{,}5$;

$$\alpha_D^{20} = -0{,}42°; \quad [\alpha]_D^{20} = -57°.$$

Arabinose nach Krüger-Tollens-Kröber: 0,3379 g Sbst.; 0,1895 g Furfurolphloroglucid. Gef.: 0,2142 g entspr. 63,4% Arabinose.

Das Araban des mit kochendem Wasser extrahierten Hydratopektins enthielt also offenbar größere Beimengungen anderer Substanzen als das Araban der bei 80° gewonnenen Hydratopektinfraktion.

Pektolsäure aus Apfelpektin.

Die Darstellung der Pektolsäure aus Apfelpektin gelang nach dem von F. Ehrlich, F. Schubert, A. Kosmahly und R. Guttmann beschriebenen Verfahren[18]).

Man verwandte zu diesem Zweck ein Pektinat aus einem gemischten Hydratopektin, das durch Auskochen von Apfelmark mit Wasser hergestellt war. Das bei 110° getrocknete Pektinat enthielt 60,3% Galakturonsäure.

40 g bei 110° getrocknetes feingepulvertes Pektinat wurden unter dauerndem mechanischem Rühren in 750 ccm 5%iger, auf 70 bis 75° erwärmter Salzsäure nach und nach eingetragen. Die Substanz ging allmählich in Lösung. Die zunächst tiefdunkelbraune Lösung färbte sich bald rotbraun. Nach 20 Minuten, als nur noch wenig ungelöste Flocken des Pektinats vorhanden waren, begann sich die Pektolsäure als rotbrauner Niederschlag rasch abzuscheiden. Die vollständige Abscheidung war innerhalb von 50 Minuten beendet. Sie vollzog sich viel schneller als beim Citruspektin[19]), auch wenn man das Hydratopektin aus Aepfeln direkt verarbeitete. Die Mischung, aus der sich die Pektolsäure rasch absetzte, wurde gut gekühlt, dann auf große Schleicher & Schüllsche Saftfilter gebracht, wobei das Filtrat sehr schnell ablief. Die zurückbleibende, rotbraun gefärbte Pektolsäure wurde mit Wasser gewaschen, bis das Filtrat sich trübte, ein Zeichen dafür, daß die Salzsäure zum größten Teil ausgewaschen war und die Pektolsäure sich langsam in Wasser zu lösen begann. Nach gutem Abtropfen wurde der Niederschlag in 96%igem Alkohol suspendiert, abgesaugt und mit Alkohol gewaschen. Durch die Behandlung mit Alkohol wurden außer der Salzsäure sehr viele färbende Bestandteile entfernt. Der Waschprozeß mit Alkohol wurde so oft wiederholt, bis das Filtrat salzsäurefrei und farblos ablief. Um partielle Veresterung zu vermeiden[20]), wurde in der Kälte gearbeitet und nicht wie früher in der Wärme auf dem Wasserbad. Die rohe Pektolsäure wurde zuletzt noch einmal in Aether suspendiert, gut abgesaugt und in dünner Schicht an der Luft getrocknet. Ausbeute an rotbraun gefärbter Pektolsäure 17,2 g, d. h. 43,0% des angewandten Pektinats.

Zur Reinigung wurde die Pektolsäure in der Weise umgefällt, daß man 17,2 g Rohprodukt in 1,5 Liter kochendem Wasser löste und nach Zusatz von Tierkohle und Kieselgur durch einen Dampftrichter filtrierte. Beim Zusatz von konz. Salzsäure fiel aus dem klaren Filtrat die Pektolsäure in feinen weißen Flocken, die sich gut absetzten. Der Niederschlag wurde wieder auf große Saftfilter gebracht, mit Wasser ausgewaschen, bis das Filtrat sich trübte und dann der Behandlung mit Alkohol und Aether unterworfen. Die Substanz wurde schließlich in breiter Schicht an der Luft getrocknet. Zur Analyse wurde die Pektolsäure noch einer zweiten

---

[18]) F. Ehrlich und F. Schubert, Ber. Deutsch. Chem. Ges. **62**, 1974 (1929). — F. Ehrlich und A. Kosmahly, Biochem. Z. **212**, 162 (1929). — F. Ehrlich und R. Guttmann, Biochem. Z. **259**, 100 (1933).

[19]) F. Ehrlich und R. Guttmann, Biochem. Z. **259**, 100 (1933).

[20]) F. Ehrlich, Biochem. Z. **250**, 527 (1932).

Umfällung unterworfen, bei der 7,5 g reinweiße Pektolsäure gewonnen wurden.

Zur Analyse wurde die lufttrockne Pektolsäure im Vakuum bei 78° über P_2O_5 getrocknet, wobei sie 15,55% Wasser verlor.

Elementaranalyse: 0,3172 g Sbst.; 0,0063 g Asche (= 0,20%) 0,4533 g CO_2; 0,1232 g H_2O.

Auf aschefreie Substanz ber.,

Gef.: C: 39,76; H: 4,43.

Für $C_{24}H_{34}O_{25}$ ber.: C: 39,89; H: 4,70.

Azidität: 1 g Substanz neutralisiert direkt gegen Phenolphtalein 55,6 ccm n/10 NaOH.

Für 1 g $C_{20}H_{30}O_{17}(COOH)_4$ ber.: 55,4 ccm n/10 NaOH.

Spezifische Drehung: 0,1713 g Sbst. in 10 ccm n/10 NaOH gelöst. c = 1,713; l = 1;

$$\alpha_D^{20} = +5{,}0°; \quad [\alpha]_D^{20} = +291{,}9°.$$

Galakturonsäure nach Tollens-Lefèvre: 0,3877 g Sbst.; 0,0952 g CO_2.

Gef.: CO_2: 24,56; Galakturonsäure 108,0.

Ber.: CO_2: 24,38; Galakturonsäure 107,3 für $C_{24}H_{34}O_{25}$.

Pektolaktonsäure aus Apfelpektin.

Die salzsauren Filtrate von der Pektolsäuredarstellung (aus 120 g Pektinat) wurden bei 35 bis 40° im Vakuum auf ungefähr 200 ccm eingeengt. Die klar filtrierte, dunkelbraune Lösung versetzte man mit der fünffachen Menge Alkohol, wobei die Pektolaktonsäure in feinen, rötlich gefärbten Flocken fiel, die sich nur allmählich absetzten. Der schleimige Niederschlag wurde auf einem Saftfilter abfiltriert. Nach längerem Behandeln mit salzsäurehaltigem Alkohol zur Entfernung von Aschebestandteilen ging die zuerst stark schleimige Pektolaktonsäure in körnige Flocken über. Sie wurde nunmehr zur Befreiung von Salzsäure wiederholt in 96%igem Alkohol suspendiert. Die sich allmählich immer mehr zusammenballende Masse ließ sich schließlich auf der Nutsche absaugen. Nach mehrfachem Nachwaschen mit Aether wurde das Produkt gut abgepreßt und trocken verrieben. Ausbeute 12 g Pektolaktonsäure in Form eines rosa gefärbten, lockeren Pulvers, d. h. 10% auf Pektinat berechnet.

Die im Vakuum über P_2O_5 bei 78° getrocknete Substanz zeigte eine spezifische Drehung von + 226,2° und enthielt noch sehr viel Asche.

Zur weiteren Reinigung wurde die dunkelbraune, klare Lösung von 11,5 g Pektolaktonsäure in 600 ccm Wasser zur Bindung der Aschebestandteile mit einer Lösung von 1,1 g Oxalsäure versetzt. Der entstandene feine Niederschlag von Calciumoxalat wurde nach dem Absitzen über Kieselgur filtriert und das Filtrat mit 150 ccm 10%iger Salzsäure erwärmt, wobei eine schwache Trübung auftrat. Nach 24stündigem Stehen filtrierte man die Lösung wieder klar, engte sie bei 35 bis 40° im Vakuum auf ein kleines Volumen ein und ließ das Konzentrat in das fünffache Volumen 96%igen Alkohol langsam eintropfen. Die Pektolaktonsäure fiel in schleimigen, noch immer etwas rosa gefärbten Flocken aus, die sich gut absetzten. Die Filtration sowie die Behandlung mit salzsäurehaltigem und 96%igem Alkohol und darauf mit Aether gestaltete sich in derselben Weise wie vorher beschrieben. Gewonnen wurden 7,5 g nur wenig gefärbte Pektolaktonsäure in Form eines lockeren Pulvers.

Zur Analyse wurde die Pektolaktonsäure bei 78° über P_2O_5 im Vakuum getrocknet, wobei sie 16,55% Wasser verlor.

Spezifische Drehung: 0,1929 g Sbst., in 10 ccm Wasser gelöst. l = 1; c = 1,929.

$$\alpha_D^{20} = +4{,}64°; \quad [\alpha]_D^{20} = +240{,}5°.$$

Azidität: 1 g Pektolaktonsäure neutralisiert direkt gegen Phenolphtalein 43,3 ccm n/10 NaOH.

Für 1 g $C_{24}H_{32}O_{24}$ ber.: 42,6 ccm n/10 NaOH (für 3 freie Carboxyle der Laktonsäure).

Nach Verseifung mit überschüssiger n/10 NaOH und Rücktitration mit n/10 H_2SO_4 wurden im ganzen 53,9 ccm n/10 NaOH neutralisiert.

Für 4 freie Carboxyle ber.: 56,8 ccm n/10 NaOH.

Galakturonsäure nach Tollens-Lefèvre: 0,2061 g Subst.; 0,0522 g CO_2.

Gef.: CO_2: 25,32; Galakturonsäure: 111,5.

Ber.: CO_2: 25,00; Galakturonsäure: 110,2 für $C_{24}H_{32}O_{24}$.

Für die folgenden Untersuchungen wurden 7,0 g Pektolaktonsäure nochmals aus salzsaurer Lösung mit Alkohol umgefällt und das Produkt wie früher beschrieben gereinigt, wobei man schließlich 4,3 g reinweiße, lockere Pektolaktonsäure gewann, die zur Analyse im Vakuum bei 78° über P_2O_5 getrocknet wurde und dabei 11,85% Wasser verlor.

Elementaranalyse: 0,2300 g Sbst.; 0,0009 g Asche (= 0,39%) 0,3428 g CO_2; 0,0941 g H_2O.

Auf aschefreie Substanz bez. gef.: C: 40,81; H: 4,60.

Für $C_{24}H_{32}O_{24}$ ber: C: 40,92; H: 4,55.

Azidität: 1 g Pektolaktonsäure neutralisiert direkt gegen Phenolphtalein 43,1 ccm n/10 NaOH. (Ber. für 1 g 42,6 ccm n/10 NaOH.) Nach zweistündiger Verseifung mit überschüssiger n/10 NaOH wurden für 1 g Pektolaktonsäure im ganzen 56,3 ccm n/10 NaOH verbraucht. (Ber. für 1 g 56,8 ccm n/10 NaOH.)

Spezifische Drehung: 0,2615 g Sbst. in 10 ccm Wasser gelöst. c = 2,615; l = 1;

$$\alpha_D^{20} = +6{,}52°; \quad [\alpha]_D^{20} = +249{,}3°.$$

Galakturonsäure aus dem Pektin der Aepfel.

15 g rohe Pektolsäure (Wassergehalt 15,56%; Galakturonsäuregehalt 95,6%) wurden in 250 ccm 1%iger Schwefelsäure suspendiert und die Mischung im Autoklaven schnell auf 4 bis 4,5 Atü (entsprechend 147 bis 150° Außentemperatur) erhitzt und 18 Minuten lang auf dieser Temperatur gehalten. Die Lösung war tief dunkelbraun gefärbt und zeigte, auf das Ausgangsmaterial berechnet, eine spezifische Drehung von $[\alpha]_D^{20} = +30{,}1°$. Das Filtrat wurde mit einer Lösung von 8 g Ba $(OH)_2$ + 8 H_2O in 200 ccm Wasser versetzt und auf einen geringen Ueberschuß an Baryt ausgetüpfelt. Das mit Tierkohle geklärte Filtrat engte man im Vakuum bei 35 bis 40° auf ungefähr 30 ccm ein und versetzte es mit der zehnfachen Menge Alkohol. Von der entstandenen flockigen Fällung wurde die Lösung über Kieselgur abfiltriert und das fast farblose, alkoholische Filtrat zunächst im Vakuum bei 30° auf etwa 30 ccm und schließlich bei gewöhnlicher Temperatur im Vakuum über Calciumchlorid zu einem dünnen, hellbraunen Sirup konzentriert. Bereits nach kurzer

Zeit erfolgte eine reichliche Kristallisation von d-Galakturonsäure. Nach längerem Stehen im Vakuum erhärtete der Kristallbrei zu einem festen Kuchen. Dieser wurde mit 90%igem Alkohol angerührt, auf der Nutsche scharf abgesaugt, mit 96%igem Alkohol und schließlich mit Aether nachgewaschen. Die eingeengten Mutterlaugen ergaben noch eine Kristallisation. Auf diese Weise gewann man nach dem Trocknen der Kristalle an der Luft und über Schwefelsäure im Vakuum 4,5 g fast reine, schneeweiße α-d-Galakturonsäure von der Formel $C_6H_{10}O_7 \cdot H_2O$.

Zur vollständigen Reinigung wurde diese Menge Galakturonsäure in 20 ccm Wasser gelöst, die etwas gelbliche Lösung mit Tierkohle entfärbt, das Filtrat im Vakuum auf etwa 5 ccm eingeengt und mit der zehnfachen Menge 96%igem Alkohol vermischt. Die dabei entstandene geringe Trübung entfernte man durch Filtration über Kieselgur.

Das Filtrat kristallisierte nach Beimpfen und starker Abkühlung beim Reiben sehr bald und erstarrte schließlich zu einem lockeren Brei von feinen Kristallnadeln. Diese wurden auf der Nutsche abgesaugt, gut mit Alkohol und Aether gewaschen und erst an der Luft und dann im Vakuum über Schwefelsäure bis zur Gewichtskonstanz getrocknet. Die Mutterlauge ergab nach dem Einengen noch eine zweite Kristallisation. Im ganzen erhielt man 3,9 g, d. h. 86,7% sehr reine α-d-Galakturonsäure bei der Umkristallisation aus dem Rohprodukt.

Die Substanz begann bei 156° zu sintern und schmolz bei 159° unter Zersetzung.

Azidität: 0,1169 g Sbst. neutralisiert direkt gegen Phenolphtalein 5,55 ccm n/10 NaOH. 1 g Galakturonsäure neutralisiert demnach 47,5 ccm n/10 NaOH. Ber.: für 1 g $C_6H_{10}O_7 \cdot H_2O$ 47,2 ccm n/10 NaOH.

Spezifische Drehung der α-d-Galakturonsäure: 0,2338 g Sbst. in 10 ccm Wasser gelöst. $c = 2{,}338$; $l = 1$.

Anfangsdrehung nach 2 Min.

$$\alpha_D^{20} = +2{,}31°; \quad [\alpha]_D^{20} = +98{,}8°.$$

Enddrehung nach 24 Std.

$$\alpha_D^{20} = +1{,}19°; \quad [\alpha]_D^{20} = +50{,}9°$$

Fermentativer Abbau des schwerlöslichen Pektins der Aepfel durch das Pektinfermentgemisch aus Penicillium Ehrlichii.

Aus 100 g Apfelmark (mit Alkohol vorgereinigt), das 12,9% Wasser und 36,3% Galakturonsäure (in der Trockensubstanz) enthielt, wurden nach der Auslaugung mit Wasser bei 60° 64,9 g hellbraun gefärbter ungelöster Rückstand gewonnen mit 8,8% Wasser und 16,3% Galakturonsäure in der Trockensubstanz.

Das für die Versuche benutzte Fermentpräparat E 87 war nach dem von F. Ehrlich[21]) beschriebenen Verfahren aus Kulturen des auf Hefewasser, Malzauszug und Citruspektin gezüchteten Schimmelpilzes Penicillium Ehrlichii gewonnen worden. Es stellte ein lockeres, fast farbloses Pulver mit einem hohen Gehalt an Protopektinase und Pektolase dar. Vorversuche hatten ergeben, daß das Ferment auf das Pektin von Orangenschalen stark lösend wirkte.

Es wurden zwei Versuche angestellt, wobei einmal das Ferment 10 Tage, das andere Mal drei Tage zur Einwirkung auf Apfelmark kam.

1. Versuch: Zehntägige Einwirkung von Protopektinase auf schwerlösliches Pektin des Apfelmarks.

Zu diesem Zweck wurden zu gleicher Zeit drei Parallelversuche angesetzt, wobei jedesmal 200 ccm Wasser in Gegenwart von 10 ccm Toluol zur Anwendung kamen.

A: 0,1 g Ferment.
B: 5 g Apfelmark.
C: 5 g Apfelmark + 0,1 g Ferment.

Man setzte jeden einzelnen Versuch für sich in einer Stöpselflasche (250 ccm Inhalt) an, stellte die Anfangswerte von p_H und Drehung in den Filtraten der einzelnen Versuche A, B, C fest und ließ diese zehn Tage im Brutschrank bei 30° stehen. Von Zeit zu Zeit wurden die Aenderungen von p_H und Drehung beobachtet, die in der folgenden Tabelle 8 zusammengestellt sind.

Tabelle 8.
Aenderung der Drehung und des p_H bei Einwirkung des Fermentes Protopektinase auf Apfelpektin.

Zeit	A: Ferment für sich		B: Apfelmark für sich		C: Apfelmark + Ferment	
	α_D^{20}; l=1	p_H	α_D^{20}; l=1	p_H	α_D^{20}; l=1	p_H
1 Std.	+ 0,03°	5,0	0	5,0	+ 0,12°	5,05
1 Tag	—	—	+ 0,03°	5,0	+ 0,64°	5,05
2 Tage	—	—	+ 0,04°	—	+ 0,75°	4,95
3 „	—	—	—	—	+ 0,86°	4,70
4 „	+ 0,03°	—	—	—	+ 0,76°	—
5 „	—	—	—	—	—	—
6 „	—	—	+ 0,06°	—	+ 0,74°	—
7 „	—	—	—	—	+ 0,74°	—
8 „	—	—	+ 0,08°	—	+ 0,74°	—
9 „	—	—	—	—	+ 0,74°	—
10 „	+ 0,03°	5,0	+ 0,08°	5,0	+ 0,74°	4,40

Bereits die Drehungszahlen zeigen die pektinlösende Wirkung des Pilzfermentes auf das Apfelmark sehr deutlich. Während bei dem Versuch mit Apfelmark und Wasser für sich in zehn Tagen nur ein Drehungsanstieg bis zu + 0,08° zu beobachten ist, bewirkt demgegenüber der Zusatz des Fermentes in Versuch C bereits in einem Tage einen Drehungsanstieg bis zu + 0,64° und nach drei Tagen eine maximale Drehung von + 0,84°, die dann langsam bis auf + 0,74° absinkt und bis zum Ende des Versuches konstant bleibt. Es sind also offenbar nur durch Fermentwirkung beträchtliche Mengen rechtsdrehender Stoffe in Lösung gegangen. Eine weitgehende fermentative Aenderung des Milieus zeigt sich auch durch die Verschiebung des p_H nach der sauren Seite, von 5,0 auf 4,4.

Um zu weiteren Aufschlüssen über die Natur der in Lösung gegangenen und ungelöst gebliebenen Körper zu gelangen, wurden die einzelnen Fermentgemische in der Weise weiter verarbeitet, daß man den ungelösten Rückstand jedesmal abfiltrierte, gut mit kaltem Wasser, Alkohol und Aether auswusch, an der Luft und bei 78° im Vakuum über P_2O_5 trocknete und darin den Gehalt

[21]) F. Ehrlich, Biochem. Z. **251**, 216 (1932).

an Galakturonsäure bestimmte. Gleichzeitig untersuchte man die zuerst erhaltenen klaren Filtrate des ungelöst gebliebenen Apfelmarks jedes für sich direkt auf verschiedene Reaktionen, engte sie dann im Vakuum bei 35 bis 40° ein und verdampfte sie schließlich auf dem Wasserbad zur Trockne. Auf diese Weise erhielt man aus dem Versuch B und C gelbbraun gefärbte, gelatinöse Blättchen von Hydratopektin. Diese wurden wie gewöhnlich mit 70%igem Alkohol in das Salz einer Pektinsäure und in Arabananteil zerlegt.

Die alkoholischen Arabanauszüge zeigten sich dabei stets als rechtsdrehend und gaben beim Verdampfen des Alkohols und Wiederaufnehmen der Sirupe mit Wasser stark reduzierende und eine positive Orcin-Reaktion gebende Lösung.

Aus diesem Verhalten ist zu schließen, daß das Hydratopektin, das durch das Ferment Protopektinase aus dem Apfelpektin gelöst wurde, durch ein gleichzeitig vorhandenes Ferment Arabanase weitere chemische Veränderungen erlitten hat, indem das Araban partiell zu l-Arabinose hydrolysiert worden ist. Dies wird auch durch die weiteren Untersuchungen der Arabansirupe bestätigt, in denen die Reduktion genauer bestimmt wurde.

Da die alkoholischen Auszüge auch deutlich die Naphthoresorcin-Reaktion gaben, ist anzunehmen, daß ein Teil ihrer Rechtsdrehungen und ihrer Reduktion auf die Anwesenheit von Galakturonsäure zurückzuführen ist, die sich durch Wirkung der Pektolase aus dem Kern der Pektinsäure abgespalten hat. Hierfür spricht auch das Auftreten einer rötlichen Blei-Reaktion.

Auch der zweite Anteil des fermentativ gelösten Hydratopektins, die pektinsauren Salze, wurde untersucht, indem man diese auf Pektinsäure verarbeitete und deren Konstanten bestimmte.

Die Pektinsäure wurde auf die Weise erhalten, daß man 1 g Pektinat in 20 ccm Wasser löste, die Lösung über Kieselgur klar filtrierte und auf die Hälfte des Volumens einengte. Das Konzentrat wurde mit 2 ccm 10%iger Salzsäure versetzt und langsam in das fünffache Volumen Alkohol eingetropft. Die Pektinsäure fiel in hellbraunen, gallertartigen Flocken aus. Der Niederschlag wurde abfiltriert, zur Befreiung von Salzsäure wiederholt mit frischem Alkohol behandelt, gut abgesaugt und mit Alkohol und Aether gewaschen. Die schließlich trocken verriebene Pektinsäure stellte ein hellbraun gefärbtes, lockeres Pulver dar im Gewicht von 0,38 g.

Zur Analyse wurde die Substanz im Vakuum bei 78° über P_2O_5 bis zur Gewichtskonstanz getrocknet, wobei sie 13,96% Wasser verlor.

Nach den unten vermerkten Analysenergebnissen zeigte die Pektinsäure ähnliche Eigenschaften wie die früher durch Wasserhydrolyse bei 100° erhaltenen Präparate[22]). Da sie wegen ihrer geringen Menge einer weiteren Umfällung nicht unterworfen werden konnte, so war sie weniger rein als die früher erhaltenen Präparate und enthielt offenbar noch andere mitgerissene Fremdstoffe.

Die Resultate des Versuches sind in den folgenden Tabellen 9 und 10 zusammengestellt.

Tabelle 9.

Versuch Nr.		A: Ferment für sich	B: Apfelmark für sich	C: Apfelmark + Ferment
Bei der Fermenthydrolyse von 5 g lufttrockenem Apfelmark (enth. 0,76 g Galakturonsäure) unangegriffen zurückgebliebene Substanz	g Rückstand lufttrocken	unwägbar	4,55	3,60
	% Trockensubstanz des ursprünglichen Apfelmarks	—	93,5	68,5
	% Galakturonsäure in der Trockensubstanz	—	13,5	5,9
	% Galakturonsäure, bezogen auf den Gesamtgehalt im ursprünglichen Apfelmark	—	75,0	24,2
Bei der Fermenthydrolyse in Lösung gegangen	g Trockensubstanz	0,09	0,30	1,53
	% der Trockensubstanz des ursprünglichen Apfelmarks	—	6,6	34,6

Isolierte Pektinsäure aus Versuch C: Lufttrocken 0,38 g. Bei 78° im Vakuum getrocknet: 0,35 g. $[\alpha]_D^{20} = +131{,}9°$. Azidität: 1 g trockne Pektinsäure neutralisiert 12,1 ccm n/10 NaOH. Gehalt an Galakturonsäure 41,8%.

2. Versuch: Dreitägige Einwirkung von Protopektinase auf schwerlösliches Pektin des Apfelmarks.

Da sich gezeigt hatte, daß bei der Einwirkung von Protopektinase auf Apfelmark die Drehung ihren höchsten Wert bereits am dritten Tag erreichte und dann wieder absank, schien daraus hervorzugehen, daß hier eine weitergehende Fermentwirkung Veränderungen des ursprünglich in Lösung gegangenen Hydratopektins hervorgerufen hat. Um ein besseres Bild über die Wirkung des Protopektinasefermentes auf ursprüngliches Apfelpektin zu erhalten, wurde noch eine analoge Versuchsreihe angestellt, bei der das Ferment nur drei Tage auf das Apfelmark zur Einwirkung kam und wobei die erhaltenen Abbauprodukte in ähnlicher Weise aufgearbeitet und untersucht wurden.

Zu gleicher Zeit wurden bei 30° angesetzt in je 200 ccm Wasser und 10 ccm Toluol:

[22]) Vgl. Pektinsäuren in Tabelle 6 aus den Auszügen bei 100°.

D: 5 g Apfelmark für sich. $p_H = 5{,}0$.
E: 5 g Apfelmark + 0,1 g Ferment. $p_H = 5{,}1$.

Die Drehung der Filtrate (α_D^{20}, l=1) änderte sich wie folgt:

	nach 10 Minuten	nach 1 Tag	nach 2 Tagen	nach 3 Tagen
D: Apfelmark für sich ..	± 0,00°	+ 0,04°	+ 0,04°	+ 0,04°
E: Apfelmark + Ferment	+ 0,07°	+ 0,65°	+ 0,77°	+ 0,85°

Isolierte Pektinsäure aus Versuch E: Lufttrocken 0,42 g. Bei 78° im Vakuum getrocknet: 0,38 g. $[\alpha]_D^{20} = + 158{,}7°$. Azidität: 1 g trockne Pektinsäure neutralisiert 13,0 ccm n/10 NaOH. Gehalt an Galakturonsäure 58,2%.

Die Ergebnisse der Versuche zeigen deutlich, daß die lösende Wirkung des Fermentes Protopektinase auf das Apfelpektin bereits nach drei Tagen vollständig ist, was besonders daraus zu ersehen war, daß die in Lösung

Tabelle 10.
Untersuchung der bei der Fermenthydrolyse von 5 g Apfelmark in Lösung gegangenen Substanzen. (10tägige Einwirkungsdauer des Fermentes.

Versuch Nr.	Reaktionen im Filtrat gegen		
	Orcin	Naphthoresorcin	Bleiessig
A: Ferment für sich	—	—	
B: Apfelmark für sich ...	schwach positiv	schwach positiv	kein Niederschlag, keine Verfärbung
C: Apfelmark + Ferment	stark positiv	stark positiv	rötlicher Blei-Niederschlag

Versuch Nr.	Araban in 70proz. Alkohol gelöst				Pektinat in 70proz. Alkohol unlöslich	
	g Sirup	% Araban i. lufttrocknen Hydratopektin	Alkohol. Araban-Lösung α_D (l=1, c=3)	Reduktion mg Cu	g lufttrocken	% im Hydratopektin
B: Apfelmark für sich ...	0,05	16,7	+ 0,19°	schwach	0,24	80
C: Apfelmark + Ferment	0,35	22,5	+ 0,33°	127,6	1,10	76

Tabelle 11.

Versuch Nr.	Bei der Fermenthydrolyse von 5 g lufttrocknem Apfelmark (enth. 0,76 g Galakturonsäure) blieb nach 3 Tagen unangegriffen zurück:			
	Rückstand lufttrocken g	% Trockensubstanz auf urspr. Apfelmark ber.	% Galakturonsäure der Trockensubstanz	% Galakturonsäure, bez. auf Gesamtgehalt im urspr. Apfelmark
D: Apfelmark für sich ...	4,85	98	14,1	83
E: Apfelmark + Ferment	3,40	69,5	4,8	20,5

Tabelle 12.
Untersuchung der bei der 3tägigen Fermenthydrolyse von 5 g Apfelmark in Lösung gegangenen Substanzen.

Versuch Nr.	Reaktionen im Filtrat gegen		
	Orcin	Naphthoresorcin	Bleiessig
D: Apfelmark für sich	schwach positiv	schwach positiv	kein Niederschlag, keine Verfärbung
E: Apfelmark + Ferment ...	stark positiv	stark positiv	rötlicher Blei-Niederschlag

Versuch Nr.	Araban in 70 proz. Alkohol gelöst				Pektinat in 70 proz. Alkohol unlöslich	
	g Sirup	% Araban in lufttrocknem Hydratopektin	Alkohol. Araban-Lösung α_D (l=1, c=3)	Reduktion mg Cu	g lufttrocken	% im Hydratopektin
D: Apfelmark für sich ..	0,04	22,2	− 0,24°	sehr schwach	0,13	72,3
E: Apfelmark + Ferment	0,35	23,3	+ 0,30°	131,8	1,10	73,5

Versuch Nr.	Bei der Fermenthydrolyse in Lösung gegangen:	
	Trockensubstanz g	% der Trockensubstanz des ursprünglichen Apfelmarks
D: Apfelmark für sich.....	0,18	4
E: Apfelmark + Ferment	1,50	32,9

gegangene Extraktmenge an Hydratopektin nach drei Tagen fast dieselbe war wie nach zehn Tagen. Auch das Verhältnis von Pektinat zu Araban in diesem Hydratopektin war in drei Tagen ungefähr das gleiche wie in zehn Tagen. Es war aber besonders bemerkenswert, daß die alkoholischen Arabanauszüge keine Linksdrehung, sondern starke Rechtsdrehung aufwiesen und das der daraus erhaltene „Arabansirup" ähnlich kräftig reduzierte wie bei dem zehntägigen Versuch, während der Arabansirup aus dem ohne Ferment angesetzten Apfelmark links drehte und nur sehr schwach reduzierte. Der mit Wasser aufgenommene Arabansirup des mit dem Ferment angesetzten Versuches zeigte bei einstündiger Hydrolyse mit heißer verdünnter Schwefelsäure keine wesentliche Aenderung der Drehung und des Reduktionsvermögens. Daraus dürfte hervorgehen, daß in dem angewandten Fermentgemisch aus Penicillium Ehrlichii außer Protopektinase, die das ursprüngliche Pektin zu Hydratopektin löst, noch ein anderes Ferment, die Arabanase, vorhanden ist, die das zunächst in Lösung gehende Araban weitgehend in l-Arabinose spaltet. Da der Arabinosesirup stark die Naphthoresorcin-Reaktion und einen rötlichen Niederschlag mit heißem Bleiessig lieferte, so muß bei diesem Versuch Pektolase Galakturonsäure aus Pektinsäure partiell abgespalten haben.

Die neben Arabinose gewonnene Pektinsäure, die aus dem pektinsauren Salz in der üblichen Weise durch Umfällen mit Salzsäure und Alkohol erhalten wurde, drehte merkbar höher (+ 158,7°) wie die nach zehntägiger Fermenteinwirkung gewonnene (+ 131,9°) und zeigte einen wesentlich höheren Gehalt an Galakturonsäure (58,2 gegenüber 41,8). Die angewandte Fermentmischung scheint demnach bei längerer Einwirkungsdauer einen weiteren Abbau der Pektinsäure herbeigeführt zu haben.

II. Chemische Untersuchungen über das Pektin des Ramiebastes.

Auf Grund früherer ausgedehnter chemischer Untersuchungen über das Pektin[1]) der Pflanzen hat F. Ehrlich schon vor längerer Zeit in einer zusammenfassenden Abhandlung „Ueber die Chemie des Pektins und seine Beziehungen zur Bildung der Inkrusten der Cellulose“[2]) die große Bedeutung der Kenntnis dieser Stoffgruppe auch für die Cellulose verarbeitenden Industrien näher dargelegt. Manche der Begleitstoffe der Cellulose, wie die Hemicellulosen, Pentosane, Hexosane und auch das Lignin, ließen sich in ihrer Entstehungsweise direkt oder indirekt mit großer Wahrscheinlichkeit auf chemische und fermentative Veränderungen der Pektinsubstanzen im Pflanzenstoffwechsel zurückführen.

Diesen Befunden entsprechend zeigte sich auch den ziemlich einheitlich aufgebauten Pektinen der Wurzeln und Obstfrüchte gegenüber das Pektin der Pflanzenstengel in eigenartiger Weise verändert. Eingehender untersucht wurden diese Verhältnisse bisher hauptsächlich am Pektin der Flachsstengel von F. Ehrlich und F. Schubert[1]), deren Ergebnisse hinsichtlich der Zusammensetzung der Kohlenhydratsubstanzen später von E. Parisi am gerösteten Flachs[3]) und am Hanf[4]) bestätigt wurden. Danach hat offenbar das Pektin der Flachs- und Hanfstengel durch Wachstumsvorgänge in der Pflanze eine merkbare Umgestaltung in seinem chemischen Aufbau erfahren. Sie macht sich vor allem geltend in dem Auftreten eines Hexopentosans an Stelle des Arabans, im Vorkommen der Xylose neben der Arabinose, durch eine wesentlich veränderte Zusammensetzung der Pektinsäuren der betreffenden Pektine und schließlich durch Bindung des Flachspektins an gewisse Ligninreste.

Die folgenden Untersuchungen bemühen sich, an dem sehr geeigneten Objekt des Pektins des Ramiebastes neues Material für die Frage der Zusammensetzung von Pektinen der Pflanzenstengel beizubringen, die durch vegetative Prozesse weitgehende Umwandlungen erfahren haben. Hierbei gelang es auch, die Frage des Auftretens des wasserunlöslichen Pektins in Pflanzenfasern und seine chemische Natur weitgehend zu klären.

Die Ramie, auch Chinagras genannt, gehört zur Gattung der Boehmeria, die sich von den eigentlichen Nesselarten nur dadurch unterscheidet, daß sie keine Brennhaare besitzt[5]). In China, Japan, Indien und auf dem Malaiischen Archipel wurden die Fasern schon von alters her zur Herstellung von außerordentlich festen und dauerhaften Seilen, Stricken, Bindfaden usw. verwertet. Erst im Jahre 1810 wurde die Ramie als Rohfaser (Bast) nach Europa eingeführt, und zwar zunächst nach England. Die Rohfaser besteht zum größten Teil aus den fasrigen Bastbestandteilen, die durch mechanische Abtrennung von den Stengeln gewonnen werden. Seit Mitte des vorigen Jahrhunderts verarbeitete man das Material in Deutschland, England und Frankreich fabrikmäßig zu festen Geweben, wie Möbelstoffen und Möbelplüschen. Die Ramiefaser diente zeitweise auch zur Herstellung von Gasglühlichtstrümpfen. In Deutschland arbeitete bis vor kurzem nur eine große Ramiespinnerei in Emmendingen (Baden).

Die bisherigen Untersuchungen über die Ramiefaser beschäftigten sich meistens mit ihrer Aufbereitung zur Gespinstfaser und mit der Struktur ihrer Cellulose. K. Heß und Mitarbeiter[6]) konnten die schon durch zahlreiche röntgenographische Arbeiten[7]) festgestellte Identität von Ramie- und Baumwollcellulose bestätigen. Es gelang ihnen, aus der Ramiefaser Cellulosekristalle[8]) abzuscheiden, deren Form und Größe sich mikroskopisch bestimmen ließen.

Ueber die chemische Zusammensetzung der übrigen Substanzen der Ramie ist nicht viel bekannt. Mac Ivor[9]) hatte Aschen von Ramie untersucht. Y. Uyeda[10]) bestimmte Wasserlöslichkeit, Benzolextrakt, Alkoholextrakt und Cellulosegehalt in der Ramie und fand bei der Untersuchung der Pflanze auch einen Gehalt von 0,66% Lignin. Lignin als Bestandteil der Ramie wurde auch von R. O. Herzog[11]) nachgewiesen. Ueber den Gehalt an Pektinstoffen und ihre Zusammensetzung ist in der Literatur nichts erwähnt. In diesem Fall war es natürlich von ganz besonderem Interesse, einen Einblick in die Chemie des Pektins der Ramie zu erhalten.

Die Untersuchungen, die im wesentlichen nach den früher[12]) näher angegebenen analytischen Methoden ausgeführt wurden, ergaben Resultate, aus denen hervorging, daß das Pektin des Ramiebastes chemisch

[1]) F. Ehrlich, Chem. Ztg. **41**, 197 (1917); Ztschr. angew. Chemie **40**, 1305 (1927); Kapitel „Pektin“ in Ullmanns Enzyklopädie d. techn. Chemie, 2. Aufl., 1931, **8**, 309; in G. Klein, Handb. d. Pflanzenanalyse **3**, 80 (1932). — F. Ehrlich u. v. Sommerfeld, Biochem. Z. **168**, 263 (1926). — F. Ehrlich u. F. Schubert, Biochem. Z. **169**, 13 (1926); **203**, 343 (1928); Ber. Dtsch. Chem. Ges. **62**, 1974 (1929). — F. Ehrlich u. A. Kosmahly, Biochem. Z. **212**, 162 (1929).

[2]) F. Ehrlich, Cellulosechemie **11**, 140, 161 (1930).

[3]) E. Parisi u. Z. Tomassini, Ann. Chim. Applicata **21**, 559 (1931).

[4]) E. Parisi, ebenda **22**, 555 (1932); Ann. Technica Agraria **4**, 59.

[5]) Wiesner, Die Rohstoffe des Pflanzenreiches, I, 566 ff. (1927).

[6]) H. Heß, E. Meßmer u. N. Ljubitsch, Ann. Chem. **44**, 287 (1925); C. **1926**, I, 886.

[7]) R. O. Herzog, W. Janke u. M. Polanyi, Ztschr. Physik **3**, 343 (1920); R. O. Herzog u. W. Janke, Ber. Dtsch. Chem. Ges. **53**, 2163 (1922).

[8]) K. Heß u. G. Schultze, Ann. Chem. **456**, 55 (1927).

[9]) Mac Ivor, Chem. News **86**, 240 (1902); C. **1903**, I, 43.

[10]) Y. Uyeda, Ind. Engin. Chem. **12**, 573 (1920); C. **1920**, IV, 372.

[11]) R. O. Herzog, Chem. Ztg. **20**, 461 (1896).

[12]) F. Ehrlich u. A. Kosmahly, Biochem. Ztschr. **212**, 162 (1929). — F. Ehrlich in G. Klein, Handbuch der Pflanzenanalyse **3**, 80 (1932).

anders zusammengesetzt sein muß als die bisher untersuchten Pektine von Obstfrüchten, Wurzeln und Stengeln, wenn auch einige Aehnlichkeit mit dem Flachspektin vorhanden ist.

Als Ausgangsmaterial benutzte man Rohfasern von Ramie, die zum größten Teil aus dem Bast bestanden und durch mechanisches Abziehen von den Stengeln frei von den Holzteilen gewonnen worden waren.

Dieses Material wurde vor der eigentlichen Pektingewinnung mit Alkohol ausgekocht und der so vorgereinigte ziemlich weiße Bast, dessen Trockensubstanz 6,5% Galakturonsäure enthielt, mit Wasser verschiedener Temperaturen zur Gewinnung von Hydratopektin ausgelaugt. Die Extraktion mit heißem Wasser schritt dabei sehr langsam vorwärts, was sehr dafür spricht, daß die Lösung des Pektins ebenso wie bei den bisher untersuchten Pektinen der Mittellamelle auf der hydrolysierenden Wirkung des Wassers beruht, die stets eine gewisse Zeit in Anspruch nimmt. In kaltem Wasser gingen bereits etwa 35% der insgesamt auslaugbaren Substanz in Lösung. Die hierbei erhaltenen dunkelbraunen sirupösen Extrakte bestanden aber nur zum geringsten Teil aus Hydratopektin und zum größten Teil aus anderen Saftbestandteilen. Der Gehalt an Galakturonsäure in den übrigen, bei höheren Temperaturen des Wassers erhaltenen Hydratopektinfraktionen lag zwischen 27 und 39%, wobei mit steigender Extraktionstemperatur der Gehalt an Galakturonsäure abnahm. Die mit heißem Wasser ausgelaugten Hydratopektine wurden wieder als gelb bis braun gefärbte, den bisher untersuchten Hydratopektinen sehr ähnliche gelatinöse Blätter erhalten. Selbst bei langem Kochen mit Wasser und nachfolgender Extraktion bei 121° im Autoklaven war es nicht möglich, die gesamten Galakturonsäure enthaltenden Substanzen aus dem Bast zu entfernen. Die weitere Untersuchung dieses Bastrückstandes wird später noch ausführlich behandelt.

Die Hydratopektine der einzelnen Fraktionen ließen sich mit 70%igem Alkohol in ein darin unlösliches pektinsaures Salz und in eine alkohollösliche Substanz zerlegen. Der in Alkohol gelöste Bestandteil wurde in einem Fall näher untersucht. Beim Verdampfen des Alkohols verblieb ein dunkelbrauner Sirup, der neben einer großen Menge bisher nicht definierter Substanzen zu etwa 25% ein Polysaccharid enthielt, das ähnlich wie beim Flachspektin aus Hexosanen und Pentosanen bestand. Der Sirup gab mit Orcin und Salzsäure stets starke Pentosenreaktion und reduzierte Fehlingsche Lösung nur schwach beim Erhitzen, sehr stark dagegen nach der Hydrolyse mit heißer verdünnter Mineralsäure. Der vollkommen getrocknete Sirup zeigte eine spezifische Drehung von — 21° und enthielt 8,7% Arabinose, 3,2% Methylpentose und 11,2% Galaktose als Anhydride. Bei der Hydrolyse mit verdünnter Säure erhielt man eine stark rechtsdrehende Lösung, deren Reduktionsvermögen auf Glykose berechnet einer Gesamtzuckermenge von etwa 25% entsprach, was leidlich gut mit der Bestimmung der gefundenen Kohlehydratkomponenten übereinstimmt. In kristallisierter Form ließen sich die analytisch ermittelten Zucker nicht fassen. Der in 70%igem Alkohol lösliche, das Hexopentosan enthaltende Anteil betrug 11 bis 22% des Hydratopektins und dementsprechend der Anteil des pektinsauren Salzes 78 bis 89%. Fruktose wurde im Gegensatz zum Flachspektin im Hexopentosan des Ramiepektins nicht beobachtet.

Die pektinsauren Salze waren graubraune, niedrig drehende und teils sehr aschehaltige Präparate. Der Aschegehalt nahm mit steigender Extraktionstemperatur des Hydratopektins ab. Während in dem aus der Hydratopektinfraktion bei 100° isolierten Salz nur noch 8% Asche vorhanden war, enthielt das Pektinat aus der Fraktion bei 20° 43% Asche, die qualitativ untersucht zum größten Teil aus Calcium und Magnesium bestand, neben Kieselsäure und Spuren von Eisen und Aluminium. Diese Asche rührte offenbar von mineralstoffreichen Substanzen des Bastes her, die sich durch Umfällen aus den pektinsauren Salzen nicht entfernen ließen.

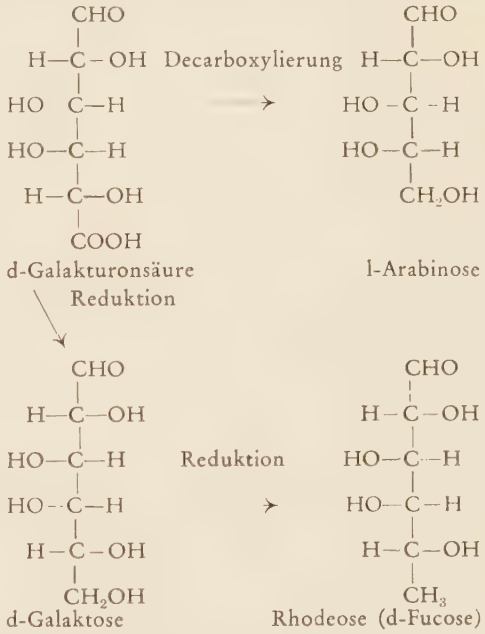
Aus den als stark verunreinigte Rohprodukte erhaltenen Pektinaten ließen sich in üblicher Weise mit einem Alkohol-Salzsäuregemisch die Pektinsäuren gewinnen, die man zur weiteren Reinigung in Wasser löste und unter Zusatz von Salzsäure mit Alkohol fällte. Man erhielt teils mehr und teils weniger Asche enthaltende, fast farblose feinpulvrige Substanzen. Die Zusammensetzung dieser Pektinsäuren ist wesentlich anders als die aller bisher untersuchten Pektinpräparate (vgl. Tabelle 3).

Die aus Ramie isolierten Pektinsäuren enthalten relativ wenig Galakturonsäure, nämlich nur 37 bis 57%, während z. B. die Pektinsäuren aus Aepfeln 53 bis 81% aufwiesen. Die Tatsache, daß man aus den Pektinaten des Ramiebastes nach den üblichen, früher bei anderen Pektinen angewandten Methoden durch Hydrolyse mit verdünnten Mineralsäuren nur in sehr geringen Mengen Pektolsäure gewinnen konnte, ist ein Beweis dafür, daß in diesen Pektinsäuren die Galakturonsäure nur zum geringsten Teil als Tetragalakturonsäure vorliegt. Sie ist wahrscheinlich in Form einer Digalakturonsäure in den Pektinsäuren enthalten. Die Präparate lösen sich ohne Quellungserscheinung in kaltem Wasser, reagieren schwach sauer und zeigen Rechtsdrehungen zwischen +56 und +94°. Neu ist das Auftreten von Methylpentosen, die zum erstenmal in Pektinsäuren entdeckt wurden. Verhältnismäßig hoch ist der Gehalt an Arabinose und teilweise sehr hoch der Gehalt an Galaktose. In eine stöchiometrische Formel ließen sich die Säuren nicht einordnen. Anscheinend liegen auch hier Gemische verschiedener Verbindungen vor. Man könnte sich vorstellen, daß den Pektinsäuren, die aus den Extrakten mit kochendem Wasser sich ergeben haben, eine Säure zugrunde liegt, die vielleicht aus zwei Molekülen Galakturonsäure, zwei Molekülen Galaktose, einem Molekül Arabinose und einem Molekül Methylpentose zusammengebaut ist. Allgemein sehr niedrig ist der Gehalt an Methylalkohol, der 1,2% nicht übersteigt, und ebenfalls der Gehalt an Essigsäure, der in den Fällen, wo man ihn bestimmt hatte, etwa 2,5% betrug. Lignin trat im Gegensatz zum Flachs weder in den Pektinsäuren auf, noch konnte es im Hexopentosananteil des Hydratopektins nachgewiesen werden. Man muß also annehmen, daß die Veränderungen der Pektinstoffe des Ramiebastes in der Pflanze chemisch in einer anderen Richtung als beim Flachs verlaufen sind.

Bei der Hydrolyse einer Pektinsäure aus Ramiebast konnte man in einem Fall kristallisierte d-Galaktose und l-Arabinose in guter Ausbeute gewinnen. Zum Unterschied vom Flachspektin ließ sich Xylose in den Pektinsäuren aus Ramiebast nicht nachweisen. Die Methylpentose erhielt man in Form eines nichtkristallisierenden Sirups, der die typischen Farbreaktionen auf Methylpentosen gab und in dem außerdem noch Arabinose nachzuweisen war. Die Abscheidung einer definierten Verbindung einer Methylpentose, für die die Verarbeitung einer sehr großen Menge Material notwendig gewesen wäre, gelang vorläufig nicht. Es war aber möglich, in einem Fall aus den Hydrolysaten nach vollständiger Abscheidung der kristallisierten d-Galaktose und l-Arabinose einen Sirup zu erzielen, der auf Grund der Furfurol- und Methylfurfurolbestimmung noch 10,5% Arabinose und 25,7% Methylpentose angereichert enthielt. Die spezifische Drehung des getrockneten Sirups betrug $+27{,}8°$, sein Gehalt an reduzierenden Zuckern, als Glykose berechnet, 37,6%. Wenn man die wahrscheinliche Annahme macht, daß die im Sirup gelöste Pentose nur aus l-Arabinose besteht, deren spezifische Drehung $+105°$ beträgt, so würde sich aus der Differenz für die unbekannte Methylpentose eine spezifische Drehung von $+65{,}3°$ ergeben. Da die häufig in den Pflanzen auftretende Rhamnose nur eine sehr schwache Rechtsdrehung von $+8$ bis $+9°$ zeigt, dürfte diese Methylpentose als Bestandteil der Kohlehydratsubstanzen des Sirups ausscheiden. Es scheint wohl möglich, daß die schon mehrfach beobachtete und von Votoček[13]) unter den Hydrolysenprodukten der Glykoside Convolvulin und Solanin aufgefundene Rhodeose (d-Fucose) hierfür in Betracht kommen könnte. Votoček[14]) gibt an, daß die spezifische Drehung der Rhodeose in wäßriger Lösung $+75{,}2°$ beträgt, d. h. etwa 10° mehr als die in dem Sirup enthaltene Methylpentose. Berücksichtigt man die unvermeidlichen analytischen Versuchsfehler, so zeigt sich eine so merkwürdige Uebereinstimmung der spezifischen Drehungen, daß die Annahme der Identität der Methylpentose unter den Kohlehydraten der Ramie-Pektinsäure mit der Rhodeose nicht ungerechtfertigt erscheint. Diese Vermutung, die natürlich später noch durch Versuche mit größeren Substanzmengen zu erhärten wäre, findet eine wesentliche Stütze bei Betrachtung der eigenartigen stereochemischen Beziehungen, die zwischen der Galakturonsäure und der neben ihr in den Pektinsäuren der Ramie nachgewiesenen Kohlehydratsubstanzen bestehen.

Schon in einer früheren Arbeit über das Tetraaraban hatten. F. Ehrlich und F. Schubert[15]) darauf hingewiesen, daß es bei der nahen stereochemischen Verwandtschaft von d-Galakturonsäure und l-Arabinose möglich erscheint, daß in der Pflanze im Verlauf bestimmter fermentativer Prozesse die Arabankomponente des Pektins durch Decarboxylierung aus der Galakturonsäure entsteht. F. Ehrlich[16]) hatte auch früher bereits angedeutet, daß sich Hemicellulosen vom Typus der Pentosane und Hexosane wahrscheinlich durch Umwandlung von Pektinstoffen bilden.

Wie bereits gezeigt worden ist, stellt das Pektin des Ramiebastes eine weitgehend veränderte Substanz dar, was schon aus den analytisch bestimmten Bestandteilen der Pektinsäuren deutlich hervorgeht, die einen stark verminderten Gehalt an Galakturonsäure und teilweise einen erhöhten an Arabinose und an Galaktose zeigen und in denen zum ersten Male das Auftreten einer Methylpentose beobachtet wurde. Die Galakturonsäure bildet zwar noch den Hauptbestandteil, aber sie liegt nicht mehr als ringförmige Tetragalakturonsäure im Molekül vor. Man kann sich nun vorstellen, daß die Arabinose durch Decarboxylierung aus der Galakturonsäure entstanden ist. Durch den anatomischen Bau der Ramiepflanze bedingt, sind die Pektinstoffe nach außen vollkommen abgeschlossen, und es ließe sich denken, daß während des Wachstums der Pflanze ein Reduktionsprozeß stattgefunden hat, bei dem aus Galakturonsäure Galaktose entstanden ist und aus der sich weiterhin die entsprechende Methylpentose, nämlich die schon erwähnte Rhodeose, gebildet hat. Die sehr nahe stereochemische Verwandtschaft zwischen Galakturonsäure, Arabinose, Galaktose und Rhodeose ergibt sich ohne weiteres bei der Betrachtung der nachfolgenden Formelbilder.



Man kann nun folgende Betrachtungen anstellen. Die ursprünglichen Pektinsäuren in der jungen Pflanze wiesen als Hauptgerüst die ringförmige Tetragalakturonsäure (Pektolsäure) auf. Durch fermentative Prozesse während des Wachstums der Stengel entstand vielleicht durch Hydrolyse eine Pektinsäure mit offener Galakturonsäurekette. Während nun drei Aldehydgruppen der vier Moleküle Galakturonsäure noch ihre glykosidische Bindung bewahrt haben, traten an den Carboxylgruppen Veränderungen auf. Durch Decarboxylierung von Carboxylgruppen wurde dieses Zwischengebilde in Arabinose, durch Reduktion von Carboxylgruppen in Galaktose und Rhodeose weiter verwandelt. Die dabei auftretenden Pentosen, Methylpentosen und Hexosen sind dann zum Teil noch an

[13]) Votoček, Zeitschr. f. Zuck.-Ind. Böhm. **24**, 248 (1900).
[14]) Votoček, ebenda **25**, 297 (1901).
[15]) F. Ehrlich u. F. Schubert, Biochem. Z. **203**, 343 (1928).
[16]) F. Ehrlich, Cellulosechemie **11**, 161 (1930).

Reste der ursprünglichen Pektinsäuren glykosidisch gebunden, zum Teil können sie durch weitere hydrolytische Spaltung als Anhydride in Form hemicellulosenartiger Verbindungen vorhanden sein. Damit wäre auch eine Erklärung dafür gegeben, daß aus dem Ramiepektin nur „Pektinsäuren" mit stark wechselnder Zusammensetzung zu isolieren sind.

Ein Beweis dafür, daß in dem Pektin der Ramie tatsächlich ursprünglich auch die ringförmige Tetragalakturonsäure als Hauptgerüst vorgelegen hat, war die Isolierung der Pektolsäure bei der Untersuchung des wasserunlöslichen Rückstandes des Ramiebastes.

Bei der erschöpfenden Auslaugung des Pektins der Ramie mit Wasser war es auffallend, daß im Gegensatz zu allen bisher untersuchten Pflanzenpektinen etwa 40% der ursprünglich vorhandenen Galakturonsäure ungelöst im Ramiebast zurückblieb. Es erschien in diesem Fall von ganz besonderem Interesse, der bisher ungeklärten Frage des wasserunlöslichen Pektins nachzugehen. Für diese Untersuchung schien das nach der erschöpfenden Auslaugung mit heißem Wasser verbleibende Material in besonderem Maße geeignet.

In der älteren Literatur[17]) über Pektin findet sich vielfach die Anschauung vertreten, daß das wandständige Pektin in den Pflanzen sich in einer festen chemischen Verbindung mit Cellulose befände, die wasserunlöslich wäre. Verschiedentlich ist auch die Vermutung aufgetreten, daß es sich hier um ein Ca-Pektat oder -Pektinat handelt, doch ist niemals aufgeklärt worden, um welche Pektinsubstanzen es sich hier handelt und welche Beziehungen zwischen dem ursprünglichen und dem wasserlöslichen Pektin bestehen. Gestützt auf frühere pflanzenphysiologische Arbeiten glaubte besonders Sucharipa[18]) durch einige Versuche den Beweis erbracht zu haben, daß das damals als Protopektin bezeichnete wasserunlösliche Pektin eine chemische Verbindung mit Cellulose darstelle, was aber durch die folgenden Untersuchungen in keiner Weise bestätigt werden kann.

Es zeigte sich nämlich, daß man aus dem vollkommen mit Wasser ausgelaugten Bastrückstand durch eine einfache Behandlung mit Salzsäure (1%ig) bereits in der Kälte das unlösliche Pektin in eine wasserlösliche Form überführen kann. Da in die salzsauren Filtrate beträchtliche Mengen von Calcium übergegangen waren, so ist es ohne weiteres einleuchtend, daß das wasserunlösliche Pektin des Ramiebastes im wesentlichen aus dem wasserunlöslichen Ca-Salz der Pektolsäure $C_{24}H_{30}O_{25}Ca_2$ besteht. Mittels Salzsäure wird aus diesem Salz die Pektolsäure in Freiheit gesetzt. Extrahiert man sie nach Entfernung der Salzsäure nunmehr mit kochendem Wasser, so geht die Pektolsäure in die wäßrige Lösung über und kann daraus in üblicher Weise in reiner Form gewonnen werden. Das pektolsaure Calcium ist offenbar während des Wachstums der Pflanze durch fermentativen Abbau aus den Pektinsäuren des ursprünglichen Pektins entstanden. Es wurde etwa die Hälfte der im Bastrückstand als unlösliches Pektin verbliebenen Galakturonsäure in Form der Pektolsäure gewonnen. Auf die gesamte Pektinmenge des ursprünglichen Ramiebastes bezogen lagen also 20% des Pektins in Form des wasserunlöslichen Ca-Salzes der Pektolsäure vor.

Die aus Ramiebast erhaltene gereinigte Pektolsäure von der Formel $C_{24}H_{34}O_{25}$ zeigte die der reinen Verbindung angenäherte Drehung von $[\alpha] = +287{,}9°$ und stimmte auch sonst in allen ihren Eigenschaften mit der bisher isolierten Pektolsäure aus Zuckerrüben und Obstfrüchten[19]) überein.

Aus den Filtraten der Pektolsäure des Ramiepektins ließen sich durch Fällung der salzsauren Lösung mit Alkohol geringe Mengen von Galakturonsäureverbindungen mit einem Gehalt von 68,5 bzw. 86,2% Galakturonsäure und einer spezifischen Drehung von $+171°$ bzw. $+183{,}8°$ isolieren. Es handelt sich hierbei wohl im wesentlichen um Pektolaktonsäure, die durch Aschebestandteile und andere mitgerissene Verbindungen verunreinigt war. Vielleicht war die Galakturonsäure auch noch in anderer komplexer Bindung vorhanden.

Schließlich wurde noch ein Versuch unternommen, die monomolekulare α-d-Galakturonsäure aus dem Ramiebast zu gewinnen. Zu diesem Zweck erhitzte man den mit Alkohol vorgereinigten Ramiebast direkt mit verdünnter Mineralsäure im Autoklaven und gewann auf diese Weise aus dem Hydrolysat über das Bariumsalz, wenn auch in geringer Ausbeute, reine kristallisierte α-d-Galakturonsäure mit den früher beschriebenen Eigenschaften.

Aus den vorliegenden Untersuchungen geht hervor, daß es sich beim Ramiepektin, ähnlich wie beim Flachspektin, um eine stark veränderte Substanz handelt, die aus ursprünglichem, eine Tetragalakturonsäure enthaltenden Pektin durch Abbauvorgänge während des Wachstums der Pflanze entstanden ist. Reste des Kerns dieses ursprünglichen Pektins liegen offenbar in der Pektolsäure vor, die aus dem wasserunlöslichen Pektin des Bastrückstandes isoliert werden konnte. In den Pektinsäuren des wasserlöslichen Pektins der Ramie, die aus einem Gemisch verschiedener Abbaustadien bestanden, ließ sich ringförmige Tetragalakturonsäure nur in Spuren nachweisen. Auf Grund der Untersuchung der Hydrolysenprodukte ist überhaupt nur auf die Existenz einer Digalakturonsäure zu schließen. Diese Galakturonsäure befindet sich offenbar in Bindung mit Kohlehydraten, die durch Decarboxylierung oder weitgehende Reduktion der freien Carboxylgruppen einzelner Moleküle Galakturonsäure entstanden sind. Bemerkenswert ist der teilweise sehr hohe Gehalt an Galaktose und das Auftreten einer Methylpentose, die sich durch weitgehende Reduktion aus der Galakturonsäure gebildet haben kann und, wie oben erwähnt, vermutlich die Rhodeose ist. Damit ist zum ersten Male eine Methylpentose als Bestandteil eines Pektins aufgezeigt worden.

[17]) F. Czapek, Biochemie der Pflanzen, Bd. I, 666 f, Jena 1913.

[18]) R. Sucharipa, Die Pektinstoffe, Braunschweig 1925.

[19]) F. Ehrlich und F. Schubert, Ber. Dtsch. Chem. Ges. 62, 1974 (1929). — F. Ehrlich u. A. Kosmahly, Biochem. Z. 212, 162 (1929).

Beschreibung der Versuche.

Ramiebast als Ausgangsmaterial.

Als Ausgangsmaterial für die Untersuchung des Pektins der Ramie[20]) diente von Stengeln abgezogener Bast, der ziemlich frei von Holzbestandteilen war. Dieser Ramiebast stammte teils aus Wuchang, teils aus Po-Yang-See in China. Er bildet lange bandartige, sehr feste Strähnen von gelblichem, schilfartigem Aussehen.

Im lufttrocknen Zustand enthielt der Ramiebast 6,1 bis 7,2% Wasser und zeigte in der Trockensubstanz einen Gehalt von 3,5 bis 4,9% Asche und durchschnittlich 6,1% Galakturonsäure (zwei Proben).

Direkter qualitativer Nachweis der d-Galakturonsäure[21]).

70 g fein zerschnittener, lufttrockner Ramiebast wurde in 1%iger Schwefelsäure (300 ccm) suspendiert und 30 Minuten lang im Autoklaven auf 4 atü (145°) erhitzt. Aus dem Bast gingen dabei gelbbraune, nach Furfurol riechende Substanzen in Lösung. Das Filtrat gab Orcin- und Naphthoresorcinreaktion, reduzierte bereits in der Kälte sehr stark Fehlingsche Lösung und zeigte eine Drehung von $+0{,}96°$ ($l = 1$). Der gut mit Wasser ausgewaschene, fast weiße Faserrückstand wog lufttrocken 51 g, d. h. 73% des lufttrocknen Ausgangsmaterials. Die Fasern hatten ihren Zusammenhang verloren und ließen sich leicht auseinanderziehen. Der Rückstand enthielt nach Tollens-Lefèvre bestimmt nur noch 0,5% Galakturonsäure. Das wie gewöhnlich mit Bariumcarbonat neutralisierte und mit Tierkohle geklärte hellgelbe Filtrat gab in einer Probe mit Bleiessig einen weißen Niederschlag, der sich im Ueberschuß des Fällungsmittels teilweise löste und beim Erhitzen auf dem Wasserbad schon eine deutlich ziegelrote Färbung aufwies. Nach Einengen des ursprünglichen geklärten Filtrates der Bariumsalze bei 35 bis 40° im Vakuum und erneutem Klären des dunkelbraunen Konzentrats mit Tierkohle wurde durch Fällung mit dem fünffachen Volumen Alkohol das Bariumsalz der Galakturonsäure in gelblichen Flocken ausgefällt. Eine Probe des abfiltrierten, gut mit Alkohol und Aether gewaschenen Salzes gab, in wenig Wasser gelöst, mit Bleiessig einen weißen Niederschlag, der sich im Ueberschuß des Fällungsmittels vollständig auflöste und beim Erhitzen auf dem Wasserbad das charakteristische ziegelrote Bleisalz in noch reinerer Farbtönung gab.

Da anzunehmen war, daß im Ramiebast die Galakturonsäure als Hauptbestandteil der Pektinstoffe vorhanden ist, wurde versucht, nach ähnlichen Verfahren, wie sie früher bei anderen Pflanzenstoffen als bewährt befunden, die Pektinsubstanzen in größeren Mengen aus dem Rohstoff zu isolieren und näher zu untersuchen.

[20]) Das Material war dem Institut freundlichst von Herrn Prof. K. Heß, Kaiser-Wilhelm-Institut Berlin-Dahlem, überlassen worden, der es aus der Fabrik Emmendingen in Baden bezogen hatte. Wir sagen auch an dieser Stelle hierfür Herrn Prof. K. Heß unsern verbindlichen Dank.

[21]) F. Ehrlich, Ber. Dtsch. Chem. Ges. **65**, 352 (1932).

Vorbehandlung des Ramiebastes für die Pektingewinnung.

Hierfür war es erforderlich, das Rohmaterial einer Vorreinigung zu unterwerfen, um nach Möglichkeit lösliche Saftbestandteile und andere Fremdstoffe daraus zu entfernen, ehe man an die eigentliche Extraktion der Pektinstoffe heranging.

Zu diesem Zweck wurde der fein zerschnittene Ramiebast erschöpfend mit 96%igem Alkohol ausgekocht, in den viele ölige Bestandteile, Farbstoffe usw. übergingen. Der stark grün gefärbte, alkoholische Auszug zeigte keine Drehung. Die Behandlung mit Alkohol wurde so lange fortgesetzt, bis das Filtrat farblos ablief. Der mit Aether nachgewaschene Bast wurde an der Luft getrocknet. Aus 1100 g lufttrocknem Ramiebast erhielt man auf diese Weise 1046,3 g gelblich gefärbte Fasern, die bei 110° getrocknet wurden, wobei sie 5,7% Wasser abgaben.

Demnach waren durch die Vorreinigung 3,9% der Fremdstoffe aus der gesamten Trockensubstanz entfernt. Die Trockensubstanz des vorgereinigten Ramiebastes enthielt 4,0% Asche und 6,4% Galakturonsäure. Stärke war darin durch die Jodreaktion nur in Spuren nachweisbar.

Die alkoholischen Auszüge hinterließen nach dem Verdampfen des Alkohols ein dunkelgrünes, öliges, nach Pflanzenfetten riechendes Produkt, das die α-Naphtholreaktion, aber keine Orcin- und Naphthoresorcinreaktion gab.

Bei der weiteren Verarbeitung zeigte es sich, daß es für die Vorreinigung des Untersuchungsmaterials wesentlich vorteilhafter ist, wenn man den Bast nicht mit 96%igem, sondern mit 70%igem Alkohol auskocht, der beträchtlich größere Mengen von Fremdstoffen löst, die in 96%igem Alkohol unlöslich sind.

In einem solchen Fall wurden 700 g Rohbast mit 7,2% Wasser, 3,5% Asche und 6,1% Galakturonsäure in der Trockensubstanz erschöpfend mit 70%igem Alkohol ausgekocht, in den braungrün gefärbte Verunreinigungen ohne Drehungsvermögen übergingen. Der Bast wurde mit Alkohol und Aether nachgewaschen und an der Luft getrocknet. Zurückblieben 625 g lufttrockner Bast (mit 4,3% H_2O), der in der Trockensubstanz 6,5% Galakturonsäure enthielt. Demnach sind mit 70%igem Alkohol aus der gesamten Trockensubstanz 7,9% Verunreinigungen entfernt worden, gegenüber 3,9% mit 96%igem Alkohol.

Hydratopektin aus Ramiebast.

Die Verarbeitung des vorgereinigten Ramiebastes geschah in ähnlicher Weise wie bei Wurzeln und Früchten, und zwar wurden in einem Fall die einzelnen bei verschiedenen Temperaturen erhaltenen Wasserauszüge getrennt für sich verarbeitet, in einem anderen Fall wurden sämtliche mit Wasser ausgekochten Extrakte zusammen eingedampft gewonnen und daran anschließend noch eine besondere Druckextraktion des Bastes mit Wasser bei 121° vorgenommen.

Getrennte Auszüge von Hydratopektin mit Wasser von 20 bis 100°.

Zur Extraktion des Pektins wurden 1000 g lufttrockner (entsprechend 943,2 g Trockensubstanz) mit 96%igem Alkohol vorgereinigter Ramiebast in einem

großen bedeckten Topf mit je 10 Liter Wasser bei 20, 40, 60, 80 und 100° ausgelaugt. Bei den angegebenen Temperaturen wurde das Wasser jedesmal so oft erneuert, bis keine wesentlichen Substanzmengen mehr in Lösung gingen. Die von 20 bis 60° gewonnenen Auszüge wurden jeder für sich in großen Schalen verdampft, die bei 80 und 100° erhaltenen Extrakte dampfte man ebenfalls getrennt voneinander im Vakuum bei 40 bis 50° ein. Die verschiedenen Auszüge waren anfangs gelblich, später farblos und trübe, ließen sich aber über Saftfilter vollkommen klar filtrieren. Den Bastrückstand, den man immer mit Wasser der gerade angewandten Temperatur nachwusch, preßte man vor der jedesmaligen Erhöhung der Auslaugungstemperatur scharf mit einer Hebelpresse ab.

Die bei 20° erhaltenen Extrakte färbten sich beim Einengen tiefdunkelbraun. Es hinterblieb ein dunkelbrauner, zähflüssiger Sirup, der eigentümlich nach Saucenwürze roch und nicht im entferntesten Aehnlichkeit mit den früher gewonnenen Hydratopektinen zeigte. Von der Schale ließ sich diese Substanz sehr schlecht ablösen. Sie enthielt das Hydratopektin neben sehr vielen Verunreinigungen, deren Beseitigung man später durch Vorreinigung des Ausgangsmaterials mit 70%igem Alkohol besser erreichen konnte. Die aus den bei 40 und 60° gewonnenen Auszügen verbleibenden Rückstände waren zwar auch noch tiefdunkelbraun gefärbt, ließen sich aber gut von der Schale ablösen und pulvern. Bei 80 und 100° erhielt man gelbbraune, gelatineartige Blätter, die in ihrem Aussehen den früher erhaltenen Hydratopektinen glichen.

Die Resultate der Auslaugungen sind aus der nachfolgenden Tabelle 1 ersichtlich.

Bei Betrachtung der Zahlen in der Tabelle 1 beobachtet man die eigentümliche Erscheinung, daß bei Steigerung der Extraktionstemperatur das Pektin jedesmal wieder viel leichter in Lösung ging, was aus der erhöhten Drehung und Menge der Trockensubstanz ersichtlich war. Bei ein und derselben Temperatur nahm die Extraktmenge und damit auch die Drehung der hintereinander folgenden Auslaugungen nur sehr allmählich ab, was sehr dafür spricht, daß die Lösung des Pektins zu Hydratopektin auf die hydrolysierende Wirkung des Wassers zurückzuführen ist, die eine bestimmte Zeit erfordert. Die einzelnen Auszüge geben fast sämtlich die Orcin- und die Naphthoresorcinreaktion.

Sieht man von der bei Zimmertemperatur erhaltenen Substanzmenge ab, so wurden 101,9 g an lufttrocknem

Tabelle 1.
1000 g lufttrockener mit 96proz. Alkohol vorgereinigter Ramiebast mit je 10 Liter Wasser extrahiert.

Temperatur der Auslaugung °C	Dauer der Auslaugung in Std.	α_D^{20} der wäßrigen Extrakte (l = 2)	Reaktionen: Orcin	Reaktionen: Naphthoresorcin	Verhalten gegen Lackmus	Verhalten gegen Fehlingsche Lösung	g ausgelaugte Substanz lufttrocken (Hydratopektin)		% Galakturonsäure in der bei 78° über P_2O_5 getrockneten Substanz
20	48	+ 0,07°	+	+	stark sauer	reduziert	45,8	56,3	—
20	24	+ 0,02°	+	+	„ „	„	10,5		
40	4	+ 0,02°	+	+	schw. sauer	reduziert	6,3	8,3	35,7
40	4	± 0,00	—	—	neutral	reduziert nicht	2,0		
60	4	+ 0,03°	+	+	schw. sauer	reduziert	3,6		
60	4	+ 0,02°	+	+	„ „	„	2,5	8,1	38,5
60	4	+ 0,01°	+	+	„ „	„	2,0		
80	4	+ 0,07°	+	+	schw. sauer	reduziert	5,7		
80	4	+ 0,06°	+	+	„ „	„	5,7		
80	4	+ 0,05°	+	+	„ „	„	4,9	28,5	37,4
80	4	+ 0,05°	+	+	„ „	„	4,4		
80	4	+ 0,04°	+	+	„ „	„	4,0		
80	4	+ 0,04°	+	+	„ „	„	3,8		
80	4	+ 0,04°	+	+	„ „	„	3,7		
80	4	+ 0,03°	+	+	„ „	„	3,7		
80	4	+ 0,03°	+	+	„ „	„	3,8	21,2	27,3
80	4	+ 0,02°	+	+	„ „	„	3,7		
80	4	+ 0,02°	+	+	„ „	„	3,5		
80	4	+ 0,02°	+	+	„ „	„	2,9		
100	4	+ 0,12°	+	+	schw. sauer	reduziert	9,8		
100	4	+ 0,09°	+	+	„ „	„	7,5		
100	4	+ 0,07°	+	+	„ „	„	5,9		
100	4	+ 0,06°	+	+	„ „	„	4,8	35,9	26,8
100	4	+ 0,06°	+	+	„ „	„	3,4		
100	4	+ 0,06°	+	+	„ „	„	2,6		
100	4	+ 0,02°	—	—	neutral	„	1,9		

Hydratopektin gewonnen, d. h. 10,2% auf lufttrocknes, vorgereinigtes Ausgangsmaterial bezogen.

Der schließlich nach erschöpfender Auslaugung mit kochendem Wasser zurückbleibende, gut mit heißem Wasser gewaschene und abgepreßte Rückstand wurde an der Luft getrocknet und wog 840 g, d. h. 84% auf lufttrockenes Ausgangsmaterial berechnet. Er enthielt noch merkbare Mengen Galakturonsäure (nach Tollens-Lefèvre bestimmt, 2,9%) und wurde später nach einem besonderen Verfahren weiter verarbeitet.

Gemischtes Hydratopektin aus Ramiebast mit kochendem Wasser extrahiert.

Zur Gewinnung von gemischtem Hydratopektin extrahierte man 500 g lufttrocknen (entsprechend 478,4 g Trockensubstanz), in diesem Fall mit 70%igem Alkohol vorgereinigten Ramiebast in einem großen bedeckten Topf sechsmal mit je 10 Liter kochendem Wasser je 1 bis 2 Stunden. Die einzelnen Auszüge wurden jeder für sich im Vakuum bei 40 bis 50° zur Trockne verdampft, wobei man das Hydratopektin in Form von gelb bis braun gefärbten gelatineartigen Blättchen, die sich leicht von der Kolbenwand ablösten, erhielt.

Die Ausbeute an lufttrocknem Hydratopektin aus sämtlichen Extraktionen betrug 28,4 g, d. h. 5,7% des lufttrocknen Ausgangsmaterials.

Bei 78° über P_2O_5 getrocknet, wurden aus der lufttrocknen vorgereinigten Ramie 5% Hydratopektin gewonnen mit einem Galakturonsäuregehalt von 41,1%.

Aus dem Bastrückstand mit Wasser bei 121° unter Druck ausgelaugtes Hydratopektin.

Als Ausgangsmaterial in diesem Fall diente der nach zehnstündigem Auskochen von 500 g lufttrocknem Ramiebast mit Wasser verbleibende Rückstand, der seinen Reaktionen zufolge noch wesentliche Mengen von Pektinsubstanzen enthielt. Um diese noch nach Möglichkeit zu gewinnen, wurde er fünfmal mit je 2 Liter Wasser hintereinander im Autoklaven unter Druck von 1 atü bei 121° je ½ Stunde erhitzt. Die erhaltenen Auszüge drehten schwach rechts (1. Auszug: $\alpha_D^{20} = +\ 0{,}72°$; 5. Auszug: $\alpha_D^{20} = +\ 0{,}05°$ für $l = 1$.), reagierten schwach sauer gegen Lackmus, reduzierten Fehlingsche Lösung nur schwach und gaben sämtlich positive Orcin- und Naphthoresorcinreaktion. Die Extrakte wurden gesammelt im Vakuum bei 40 bis 50° zur Trockne verdampft. Im ganzen wurden erhalten: 25,4 g lufttrocknes Hydratopektin, d. h. 5,1 % auf lufttrocknen ursprünglichen Bast bezogen oder 4,7% vollständig getrocknetes Hydratopektin.

In dem trocknen Hydratopektin wurden 30,8% Galakturonsäure gefunden.

Insgesamt wurden bei der Auskochung und Auslaugung unter Druck mit Wasser aus 500 g lufttrocknem (478,4 g Trockensubstanz), mit 70%igem Alkohol vorgereinigten Ramiebast 53,8 g = 10,7% lufttrocknes oder 9,7% vollständig getrocknetes Hydratopektin gewonnen, berechnet auf lufttrocknes Ausgangsmaterial.

Die Gesamtmenge der ausgelaugten Galakturonsäure berechnet sich zu 59,5% der im Ausgangsmaterial ursprünglich vorhandenen Menge. Demnach muß also im Rückstand noch eine nicht unbeträchtliche Menge Pektin in wasserunlöslicher Form verblieben sein.

Der nach der Auslaugung im Autoklaven verbliebene Rückstand wurde gut mit heißem Wasser nachgewaschen und an der Luft getrocknet. Er bildet hellgraue, lockere Fasern und wog lufttrocken 445 g, d. h. 89% des lufttrocknen Ausgangsmaterials. Beim Trocknen bei 110° gaben die Fasern 4,6% Wasser ab. Auf die gesamte ursprüngliche Trockensubstanz bezogen, berechnet sich die Menge der zurückbleibenden Fasern zu 88,7%.

Pektinsaure Salze aus den Hydratopektinen des Ramiebastes.

1. Aus getrennten Auszügen von Hydratopektin bei 20 bis 100°:

Man gewann die einzelnen Pektinate aus den verschiedenen Hydratopektinen durch Behandlung mit der zehnfachen Menge von 70%igem Alkohol.

Die Hydratopektine der mit kaltem Wasser (20°) erhaltenen Auszüge im Gewicht von 56,3 g, die, wie schon erwähnt, sehr verunreinigte, zähflüssige Sirupe bildeten, ergaben mit 70%igem Alkohol dunkelbraune, optisch inaktive Lösungen. Die anfangs sirupöse Masse erhärtete dabei allmählich. Die zurückbleibenden Krusten ließen sich nun abfiltrieren und wurden noch einmal in 70%igem Alkohol suspendiert, der sich aber kaum noch anfärbte. Zur weiteren Reinigung wurde der Rückstand in Wasser gelöst, wobei etwa 3,5 g etwas gelblich gefärbte, körnige Substanz zurückblieb, die zu 92% aus Mineralstoffen (Ca, Mg, SiO_2 und Al) bestand. Aus der klar filtrierten wässerigen Lösung fiel bei Zusatz von überschüssigem Alkohol ein gelbbrauner Niederschlag in voluminösen Flocken, der sich bald absetzte und sich gut absaugen ließ. Man wusch ihn auf der Nutsche mit Alkohol und Aether nach und trocknete ihn an der Luft. Auf diese Weise erhielt man 24,7 g eines wenig reinen, stark mit Aschebestandteilen durchsetzten pektinsauren Salzes.

Zur Analyse trocknete man das Salz bei 78° über P_2O_5 im Vakuum.

Das Salz enthielt 43,03% Asche.

Die Asche bestand vorwiegend aus Calcium und Magnesium neben Kieselsäure und Spuren von Eisen und Aluminium. Beim Uebergießen der Asche mit verdünnter Salzsäure trat Geruch nach Schwefelwasserstoff auf.

Spezifische Drehung des Salzes in Wasser: $[\alpha]_D^{20} = +\ 22{,}5°$. Gehalt an Galakturonsäure 32,9%.

Die fein gepulverten Hydratopektine der übrigen wässerigen Auszüge von 40, 60, 80 und 100° wurden jedes für sich in der zehnfachen Menge 70%igem Alkohol suspendiert und unter häufigem Umrühren 48 Stunden stehengelassen. Von dem Hydratopektin bei 80° wurden die Auszüge 1 bis 6 getrennt von den Auszügen 7 bis 12 behandelt (vgl. Tabelle 1, S. 6). Die alkoholischen Filtrate waren alle tiefbraun gefärbt. In den Auszügen der Fraktionen von 40 und 60° war keine Drehung wahrnehmbar, während die übrigen

alkoholischen Filtrate nur eine schwache Linksdrehung aufwiesen. Die Rückstände wurden abgesaugt und nochmals in 70%igem Alkohol suspendiert, der sich kaum noch anfärbte und in keinem Falle mehr eine Drehung zeigte. Die ungelöst zurückgebliebenen Pektinate wurden nach dem Absaugen gut mit Alkohol und Aether gewaschen und an der Luft getrocknet. Die Ausbeuten daran betrugen 75 bis 89% des angewandten trocknen Hydratopektins, wenn man von der Fraktion bei 20° absieht. Die Aschegehalte der pektinsauren Salze nahmen mit der Erhöhung der Auslaugungstemperatur des Hydratopektins ab, wie die folgende Tabelle 2 zeigt.

3. Aus dem durch Extraktion unter Druck gewonnenen Hydratopektin:

Aus 24,0 g lufttrocknem Hydratopektin (mit Wasser bei 121° unter Druck gewonnen) erhielt man nach der Behandlung mit 70%igem Alkohol 22,0 g Pektinat, das beim Trocknen bei 78° im Vakuum über P_2O_5 16,4% Wasser verlor.

Die Ausbeute an pektinsaurem Salz betrug auf trocknes Hydratopektin berechnet 85,5%.

Spezifische Drehung in Wasser: $[\alpha]_D^{20} = +58,5°$.

Gehalt an Galakturonsäure 38,1%.

Tabelle 2.
Ausbeuten an pektinsauren Salzen aus den Hydratopektinen des Ramiebastes der Auszüge von 20 bis 100° und deren Aschegehalte.

Hydratopektin Auszug bei °C.	Angewandt g Hydratopektin (trocken)	Erhalten g pektinsaures Salz (trocken)	% pektinsaures Salz (trocken)	% Asche im trocknen Hydratopektin
20	56,3	20,7	36,8	43,0
40	6,8	5,3	78,0	20,7
60	6,7	5,0	74,6	15,8
80[1])	24,0	20,0	83,3	11,4
80[2])	17,2	15,4	89,5	10,4
100	27,7	22,3	80,5	8,0

[1]) Auszug 1 bis 6 (vgl. Tabelle 1. S. 24).
[2]) Auszug 7 bis 12 (vgl. Tabelle 1).

Die alkoholischen Lösungen wurden jede für sich zunächst im Vakuum bei 35 bis 40° eingeengt und dann auf dem Wasserbad zur Trockne verdampft. Man erhielt daraus tiefdunkelbraune, sirupöse Rückstände. Die aus den Hydratopektinen von 20 bis 60° gewonnenen Sirupe aus dem 70%igen Alkohol zeigten keine Drehung, reduzierten Fehlingsche Lösung bereits in der Kälte sehr stark und gaben mit Orcin und Salzsäure keine Pentosenreaktion, während die aus den Hydratopektinen von 80 und 100° gewonnenen Sirupe der alkoholischen Filtrate schwache Linksdrehung zeigten, beim Erhitzen Fehlingsche Lösung nur sehr wenig reduzierten und Orcinreaktion gaben. Sie schienen neben Pentosanen noch Hexosane zu enthalten, wie aus einer späteren Untersuchung hervorging.

2. Aus gemischtem Hydratopektin des Ramiebastes mit kochendem Wasser extrahiert:

Das Hydratopektin wurde, wie oben beschrieben, mit der zehnfachen Menge 70%igem Alkohol behandelt. Der alkoholische Extrakt war tiefdunkelbraun gefärbt und zeigte eine schwache Linksdrehung. Das zurückbleibende Pektinat wurde gut mit Alkohol und Aether gewaschen.

Man gewann auf diese Weise aus 24,6 g lufttrocknem Hydratopektin 20,9 g hellgraues, körniges pektinsaures Salz, das beim Trocknen über P_2O_5 im Vakuum bei 78° 15,1% Wasser verlor. Auf trocknes Hydratopektin bezogen, betrug die Ausbeute an trocknem Pektinat 86,5%.

Spezifische Drehung in Wasser: $[\alpha]_D^{20} = +90,9°$.

Gehalt an Galakturonsäure 46,5%.

Darstellung der freien Pektinsäuren aus den Pektinaten des Ramiebastes.

Die Darstellung der Pektinsäuren geschah in ähnlicher Weise wie bei anderen Pektinarten. Sie wurden aus den einzelnen früher gewonnenen Pektinaten mit Salzsäure und Alkohol freigemacht. Zu diesem Zweck suspendierte man die Pektinate jedes für sich in der 20fachen Menge säurehaltigem Alkohol, der aus 80 Teilen 96%igem Alkohol und 20 Teilen 10%iger Salzsäure bestand. Man ließ das Gemisch etwa 48 Stunden stehen, unter häufigem Umrühren. Die braunen alkoholischen Lösungen zeigten keine Drehungen oder drehten nur schwach rechts. Die ungelösten, wesentlich entfärbten Rückstände wurden nach 48stündigem Stehen abgesaugt, mit salzsäurehaltigem und dann mit gewöhnlichem Alkohol gut nachgewaschen und von neuem in Alkohol-Salzsäure suspendiert, der sich in den meisten Fällen kaum noch anfärbte. Die Pektinsäuren wurden nun wieder abgesaugt, gut mit salzsäurehaltigem Alkohol nachgewaschen und dann so oft in 96%igem Alkohol suspendiert und wieder abgesaugt, bis das Filtrat salzsäurefrei ablief. Dann wusch man die Pektinsäuren noch gut mit Aether nach und trocknete sie schließlich an der Luft. Die so gewonnenen Präparate waren alle hellbraun gefärbt und noch aschehaltig. Auf das angewandte lufttrockne Pektinat berechnet, betrugen ihre Ausbeuten etwa 80 bis 95%.

Zur weiteren Reinigung wurden die rohen Pektinsäuren in der zehnfachen Menge Wasser gelöst. Die trüben hellbraunen, schleimigen Flüssigkeiten klärte man durch Zusatz von Kieselgur und Tierkohle. Durch mehrmaliges Absaugen über Kieselgur erhielt man

schließlich durchsichtig klare, etwas gelblich gefärbte Filtrate, die im Vakuum bei 35 bis 40° konzentriert wurden. Unter Zusatz von etwa 5 ccm 10%iger Salzsäure pro Liter ließ man die klaren Konzentrate in das fünffache Volumen Alkohol langsam einfließen, wobei die Pektinsäuren in feinen, fast farblosen Flöckchen ausfielen, die sich rasch zusammenballten und absetzten. Die körnig gewordenen Niederschläge ließen sich gut auf der Nutsche absaugen. Man wusch sie gründlich mit salzsäurehaltigem Alkohol aus, suspendierte sie mehrmals in Alkohol und saugte wieder ab. Diese Operation wurde solange wiederholt, bis das alkoholische Filtrat salzsäurefrei ablief. Die Pektinsäuren wusch man dann gut mit Aether nach und trocknete sie an der Luft. Man erhielt auf diese Weise schwach bräunlich gefärbte feinpulvrige Pektinsäuren, die bei weiterer Reinigung durch erneutes Umfällen sich in fast rein weiße Pulver verwandelten.

Zur Analyse der einzelnen Bestandteile wurden die Pektinsäuren bei 78° im Vakuum über P_2O_5 bis zur Gewichtskonstanz getrocknet. Soweit die Substanz reichte, wurden nach den früher benutzten Methoden folgende Bestimmungen ausgeführt:

Elementaranalyse, Asche, spezifische Drehung, Galakturonsäure, Methylalkohol, Arabinose, Galaktose und Essigsäure.

Bei der Untersuchung der Pentosen in den Pektinsäuren nach der Krüger-Tollens-Kröberschen Furfurolmethode fiel es erst später auf, daß das entstandene Phloroglucid nicht ausschließlich aus Arabinose und Galakturonsäure herstammen konnte, vielmehr noch ein anderer Zucker an seiner Entstehung beteiligt war. Das bei der Gesamtpentosanbestimmung erhaltene „Furfurolphloroglucid" löste sich nämlich zu einem ganz beträchtlichen Teil in 96%igem Alkohol, was zu der Annahme führte, daß in den Pektinsäuren außer Pentosen auch noch eine Methylpentose enthalten ist, eine Zuckerart, die man in anderen Pektinen, wie z. B. im Flachspektin, bisher noch nicht beobachtet hatte. Man versuchte einen qualitativen Nachweis der Methylpentose in den Pektinsäuren mit Hilfe der Rosenthalerschen[22]) Reaktion zu erbringen, indem man die Substanz mit 10 ccm konz. Salzsäure und 1 bis 2 ccm Aceton im siedenden Wasserbad etwa 5 Minuten erhitzte. Bei Anwesenheit von Methylpentosen tritt eine himbeerrote Farbe auf und im Spektrum wird eine scharfe Absorptionsbande auf der D-Linie erzeugt. Bei Anwendung dieser Reaktion auf die Pektinsäuren direkt erhielt man wohl infolge der Anwesenheit der Galaktose nur eine lichtbraune Färbung. Im Spektrum konnte man in diesem Falle, allerdings nur sehr schwach, eine die D-Linie bedeckende Absorptionsbande beobachten. Viel deutlicher wurde der Nachweis, als man daran ging, das bei der Destillation der vermuteten Methylpentose zu erwartende Methylfurfurol mit Hilfe charakteristischer Reaktionen zu ermitteln. Es zeigte sich, daß bei den Destillationen der Pektinsäuren mit 12%iger Salzsäure in die Destillate neben Furfurol stets Methylfurfurol überging, das man mit den Reaktionen von Rosenthaler und Tollens-Widsoe[23]) stets scharf nachweisen konnte. Beim Erhitzen der Lösung mit konzentrierter Salzsäure und Aceton ergab sich nach Rosenthaler die charakteristische himbeerrote Farbe und eine scharfe Absorptionsbande auf der D-Linie des Spektrums. Anfangs trat dabei in manchen Fällen eine zweite Absorptionsbande auf, die sich direkt an die durch Methylpentosen erzeugte Bande anschloß. Sie wird durch die Anwesenheit von Pentosen erzeugt, verschwindet aber nach kurzer Zeit beim Stehen der Lösung. Beim Erhitzen der Lösung nach Tollens-Widsoe mit konzentrierter Salzsäure allein erhielt man die von ihnen angegebene, für die Anwesenheit von Methylpentosen charakteristische gelb-orange Färbung und eine Absorptionsbande in Grün. Damit war der qualitative Nachweis von Methylpentose in den Pektinsäuren des Ramiebastes geliefert.

Bei den ersten Pentosanbestimmungen in den Pektinsäuren (20° bis 80°$_1$) war der gesamte Furfurolphloroglucidniederschlag nach Abzug des aus Galakturonsäure entstandenen Anteils auf Gesamtpentose als Arabinose umgerechnet worden ohne Rücksicht auf den erst in den späteren Präparaten näher bestimmten Gehalt an Methylpentose (vgl. Tabelle 3).

Um die Methylpentose quantitativ zu bestimmen, wurde in den Pektinsäuren der späteren Auszüge (80$_2$ und 100) nach dem üblichen Verfahren der Methylpentosenbestimmung der bei der Destillation mit Salzsäure sich ergebende Furfurolphloroglucidniederschlag mit 96%igem Alkohol bei 60° behandelt, wobei das darin enthaltene Methylfurfurolphloroglucid[24]) in Lösung ging. Den verbleibenden Rückstand rechnete man nach Abzug des aus Galakturonsäure gebildeten Furfurolphloroglucid auf Arabinose um. Die Berechnung der Methylpentosen als Fucose geschah mit Hilfe der Mayer-Ellettschen[25]) Tabellen.

Zu bemerken ist, daß bei der Bestimmung der Methylpentosen etwas Furfurolphloroglucidniederschlag in Lösung geht, der von Zersetzungsprodukten der Galakturonsäure[26]) herrührt. Da diese Menge aber nur 1 bis 1,8% des Furfurolphloroglucidniederschlags beträgt, wurde eine dementsprechende Korrektur nicht angebracht.

Die gesamten Analysenresultate der einzelnen Bestandteile der verschiedenen Pektinsäuren aus dem Pektin des Ramiebastes sind übersichtlich in der folgenden Tabelle 3 gegeben.

Präparative Darstellung der in den Pektinsäuren aus Ramie gebundenen Kohlenhydrate.

Nach den Ergebnissen der oben mitgeteilten Zuckerbestimmungen war anzunehmen, daß in den Pektinsäuren die Arabinose, Galaktose und eine Methylpentose in gebundener Form enthalten sind. Mit einer sorgfältig durchgeführten Hydrolyse gelang es in guter Ausbeute l-Arabinose und d-Galaktose in reiner Form zu isolieren, deren Konstanten näher

[22]) Van der Haar, Anleitung zum Nachweis, Trennung und Bestimmung der Monosaccharide und Aldehydsäuren, S. 48 (1920).

[23]) Ebenda S. 51.

[24]) Votoček, Ber. Dtsch. Chem. Ges. 30, 1195 (1897).

[25]) Van der Haar, Monosaccharide 1920, S. 83.

[26]) F. Ehrlich und F. Schubert, Ber. Dtsch. Chem. Ges. 62, 1974 (1929).

Tabelle 3.

Zusammensetzung der Pektinsäuren aus verschiedenen Fraktionen des Ramiebastpektins. (1000 g mit Alkohol vorgereinigter lufttrockner Ramiebast mit je 10 Liter Wasser extrahiert.)

Pektinsäure aus Hydratopektin, ausgezogen bei °C:	20	40	60	80[1])	80[2])	100	121[3])
g Pektinsäure, gereinigt und trocken	2,9	1,5	2,2	9,5	9,2	10,6	11,0
Spezifische Drehung: $[\alpha]_D^{20}$	+62,9°	+56,0°	+73,8°	+87,4°	+93,2°	+83,4°	71,1°
Galakturonsäure %	57,3	41,1	46,2	50,1	37,8	36,5	48,3
Methylalkohol %	1,22	0,90	1,01	1,22	0,41	0,62	1,15
Essigsäure %	—	—	—	2,3	2,4	2,5	—
Arabinose %	0*	9,9*	11,9*	15,8*	16,2	15,4	11,2
Methylpentose als Fucose ber. %	—	—	—	—	8,7	11,8	8,4
Galaktose %	—	—	—	9,2	10,5	24,2	24,8
1 g Pektinsäure neutralisiert ccm n/10 NaOH	17,9	18,4	19,1	15,9	15,5	15,5	17,5
Asche %	14,28	12,5	2,2	0,3	0,4	0,4	1,04
Elementaranalyse bezogen auf aschefreie Substanz: % C	—	—	—	41,9	41,6	41,5	—
Elementaranalyse bezogen auf aschefreie Substanz: % H	—	—	—	5,6	5,8	5,6	—

— nicht bestimmt.

[1]) Diese Pektinsäure wurde aus dem Hydratopektin der Auszüge 1 bis 6 bei 80° hergestellt.

[2]) Aus den Auszügen 7 bis 12 des bei 80° gewonnenen Hydratopektins.

[3]) Aus Hydratopektin, Seite 25 dargestellt, bei 121° unter Druck ausgelaugt.

*) In diesen Pektinsäuren war der Gehalt an Methylpentose nicht bestimmt worden. Das gesamte aus Pentosen entstandene Furfurolphloroglucid wurde daher auf Arabinose umgerechnet.

bestimmt wurden. Eine Methylpentose war bisher nur in Form eines Sirups zu gewinnen.

Zu der Hydrolyse verwandte man das Präparat der Pektinsäure, die man aus dem pektinsauren Salz des mit Wasser bei 121° unter Druck gewonnenen Hydratopektins erhalten hatte.

5 g (bei 78° über P_2O_5 im Vakuum vollständig getrocknete) Pektinsäure wurden in 200 ccm 1%iger Schwefelsäure gelöst und unter Rückfluß gekocht. Von Zeit zu Zeit beobachtete man die Aenderung der Drehung und des Reduktionsvermögens. Wie aus der folgenden Tabelle 4 hervorgeht, war die Hydrolyse im wesentlichen nach achtstündigem Erhitzen beendet. Innerhalb dieser Zeit erreichte die Drehung und die Reduktion konstante Werte.

Das verbleibende Hydrolysat neutralisierte man unter schwachem Erwärmen mit überschüssigem Bariumcarbonat und klärte es mit Tierkohle. Das klare, hellgelbe Filtrat konzentrierte man im Vakuum bei 35 bis 40° auf etwa 50 ccm und versetzte es mit dem fünffachen Volumen Alkohol, wobei das Bariumsalz der Galakturonsäure in feinen geblichen Flocken ausfiel. Es wurde abfiltriert, mit Alkohol und Aether nachgewaschen und im Vakuum über Schwefelsäure getrocknet (2,0 g). Das über P_2O_5 im Vakuum bei 78° bis zur Gewichtskonstanz getrocknete Salz, das noch ziemlich unrein war, zeigte eine Drehung von $[\alpha]_D^{20} = +25{,}6°$. (F. Ehrlich und R. Guttmann[27]) fanden für das reine Bariumsalz der Galakturonsäure mit der Formel $(C_6H_9O_7)_2Ba$ $[\alpha]_D = +29{,}2°$.)

Das hellgelbe, alkoholische Filtrat vom Bariumsalz, das eine Drehung von +0,80° (l = 1) aufwies, wurde nach dem Einengen im Vakuum noch einmal mit 96%igem Alkohol versetzt, wobei sich die Lösung trübte. Das über Kieselgur geklärte Filtrat gab nun keine Reaktion auf Barium mehr. Es wurde erneut zunächst bei 35 bis 40° im Vakuum über Calciumchlorid zu einem dünnen hellbräunlichen Sirup ein-

[27]) F. Ehrlich und R. Guttmann, Biochem. Z. **259**, 100 (1933).

Tabelle 4.

5 g trockne Pektinsäure in 200 ccm 1%iger Schwefelsäure zur Hydrolyse angesetzt. Zur Bestimmung des Reduktionsvermögens wurden jedesmal 5 ccm Hydrolysat verwendet.

Zeit des Kochens in Std.	α_D^{20} des Hydrolysats. l=1	$[\alpha]_D^{20}$	Reduktion mg Cu.	entprechend mg Glykose	Reduzierende Substanz i. % der Pektinsäure als Glykose ber.
0	+1,45°	+58°			
1/2	+1,80°	+72°			
1	+2,10°	+84°			
2	+2,10°	+84°			
3	+2,15°	+86°	137,3	74,6	59,7
5	+2,00°	+80°	146,5	80,2	64,2
8	+1,85°	+74°	153,4	84,6	67,7
10	+1,83°	+73,2°	153,4	84,6	67,7

geengt. Dieser begann sich bald zu trüben und reichlich Kristalle zu bilden, die aus Galaktose bestanden. Nach längerem Stehen saugte man die weißen Kristalle ab, wusch sie zunächst mit 80%igem, dann mit gewöhnlichem Alkohol und wenig Aether nach, und trocknete sie über Schwefelsäure im Vakuum. Nach Einengen des alkoholischen Filtrates wurde noch eine zweite Galaktosekristallisation erhalten. Auf diese Weise gewann man aus 4,5 g Pektinsäure 1,05 g Galaktose, d. h. 23,3%.

Der Zucker war vollkommen frei von Pentosen.

Spezifische Drehung: 0,1165 g Sbst. in 10 ccm Wasser gelöst. $l = 1$; $c = 1{,}165$.

Anfangsdrehung nach 2 Min.:

$$\alpha_D^{20} = +1{,}68^0; \quad [\alpha]_D^{20} = +144{,}2^0.$$

Enddrehung nach 24 Std.:

$$\alpha_D^{20} = +0{,}93^0; \quad [\alpha]_D^{20} = +79{,}8^0.$$

(Reine Galaktose zeigt eine Enddrehung von $[\alpha]_D = +80{,}5^0$.)[28])

Schleimsäure aus d-Galaktose. 0,5 g der bei der Hydrolyse der Pektinsäure gewonnenen d-Galaktose wurde in 12 ccm Salpetersäure vom spez. Gew. 1,15 gelöst und auf dem Wasserbad auf ⅓ des Volumens eingeengt. Bald nach dem Abkühlen schied sich ein dicker weißer Kristallbrei von Schleimsäure aus. Er wurde abgesaugt, gut mit Wasser gewaschen und bei 105° getrocknet. Man erhielt auf diese Weise 0,34 g weiße Schleimsäure mit einem Schmelzpunkt von 214°.

Das Filtrat der zuletzt erhaltenen Galaktose, das $+1{,}33^\circ$ ($l = 1$) drehte und mit Salzsäure und Orcin eine starke Pentosenreaktion gab, wurde bei gewöhnlicher Temperatur im Vakuum über Calciumchlorid vorsichtig eingeengt. Der hellbraune Sirup begann bald wieder reichlich Kristalle zu bilden, die sich als l-Arabinose erwiesen. Nach längerem Stehen saugte man den Kristallbrei ab, wusch ihn mit 70%igem sowie mit 96%igem Alkohol und schließlich mit wenig Aether nach. Nach dem Trocknen im Vakuum über Schwefelsäure erhielt man reinweiße Kristalle von l-Arabinose im Gewicht von 0,35 g, d. h. 8% der zur Hydrolyse angewandten Pektinsäure.

Die isolierte Arabinose zeigte mit Orcin und Salzsäure eine starke Pentosenreaktion, aber keine Rosenthalersche Reaktion auf Methylpentosen mit konzentrierter Salzsäure und Aceton.

Spezifische Drehung: 0,1148 g Sbst. in 10 ccm Wasser gelöst. $c = 1{,}148$; $l = 1$.

Anfangsdrehung nach 2 Min.:

$$\alpha_D^{20} = +1{,}82^0; \quad [\alpha]_D^{20} = +158{,}6^0.$$

Enddrehung nach 24 Std.:

$$\alpha_D^{20} = +1{,}15^0; \quad [\alpha]_D^{20} = +100{,}2^0.$$

Das alkoholische Filtrat der Arabinosekristallisation wurde wieder vorsichtig im Vakuum bei Zimmertemperatur über Calciumchlorid eingeengt. Der hellbraune Sirup gab mit Salzsäure und Orcin noch Pentosenreaktion und mit Aceton und Salzsäure sehr starke Methylpentosenreaktion. Nach längerem Stehen hatten sich wenige Kristalle gebildet. Es waren, unter dem Mikroskop betrachtet, schön ausgebildete, vielfach abgeschrägte Prismen und Tafeln. Beim Anrühren mit verdünntem Alkohol lösten sich diese Kristalle wieder auf. Das Filtrat wurde erst über Calciumchlorid und dann über Schwefelsäure im Vakuum zu einem zähflüssigen Sirup eingeengt, der 1,92 g wog. Man löste diesen Sirup in 10 ccm Wasser und bestimmte darin die spezifische Drehung, die Reduktion sowie den Gehalt an Arabinose und Methylpentose.

Spezifische Drehung: 1,92 g Sirup in 10 ccm Wasser gelöst.

$l = 1$; $c = 19{,}2$. $\alpha_D^{20} = +5{,}34^0$. $[\alpha]_D^{20} = +27{,}8^0$.

Bestimmung der Reduktion nach Bertrand: 1 ccm der Lösung entsprechend 0,192 g Sirup reduzieren 137,8 mg Cu entsprechend 72,2 mg Glykose. Der Sirup enthält als Glykose berechnet 37,6% Gesamtzucker.

Bestimmung von Arabinose und Methylpentose in 3 ccm Lösung entsprechend 0,576 g Sirup. Erhalten: 0,1180 g Furfurol- und Methylfurfurolphloroglucid. Bei der Behandlung mit 96%igem Alkohol bei 60° gingen 0,0682 g des Phloroglucidniederschlages in Lösung als Methylfurfurolphloroglucid. Gef.: Methylpentose (Fucose) 0,1478 g entsprechend 25,7% des Sirups.

Für Arabinose blieben 0,0498 g Furfurolphloroglucid. Gef.: Arabinose 0,0609 g entspr. 10,5%.

Zieht man von der Gesamtdrehung des Sirups $\alpha_D^{20} = +5{,}34^0$ den auf Arabinose entfallenden Betrag $= +2{,}12^\circ$ ab (spezifische Drehung der reinen l-Arabinose beträgt $+105^\circ$), so bleibt für die unbekannte Methylpentose eine Drehung von $\alpha_D^{20} = +3{,}22^\circ$ übrig. Aus dieser Zahl errechnet sich für die Methylpentose eine spezifische Drehung von $[\alpha]_D^{20} = +65{,}3^\circ$. Die Methylpentose Rhodeose (d-Fucose) hat eine spezifische Drehung von $+75{,}2^\circ$, also etwa 10° höher als die spezifische Drehung der Methylpentose im Sirup.

Als Grundlage für diese Berechnung diente auch die Tatsache, daß neben Arabinose keine andere Pentose, besonders aber keine Xylose vorhanden war. Eine Probe des Sirups wurde zuvor nach Bertrand mit Brom und Cadmiumcarbonat behandelt, wobei keine Ausscheidung der typischen Kristalle des Brom-Cadmiumsalzes der Xylonsäure stattfand.

Versuch der Darstellung von Pektolsäure aus einem pektinsauren Salz des Ramiebastes.

Zur Darstellung der Pektolsäure benutzte man das Pektinat des durch Auskochen von Ramiebast mit Wasser erhaltenen Hydratopektins. Das Pektinat enthielt in seiner Trockensubstanz 46,5% Galakturonsäure.

In einem weithalsigen Kolben wurden 300 ccm 5%ige Salzsäure auf 70 bis 75° erwärmt. In diese Lösung wurden unter mechanischem Rühren allmählich 20 g lufttrocknes (17 g vollkommen getrocknetes) Salz eingetragen. Die Temperatur wurde weiterhin auf 70 bis 75° gehalten, wobei das pektinsaure Salz sich langsam löste. Nach 45 Minuten war die Lösung vollkommen klar. Nach 50 Minuten trübte sie sich und es schied sich wenig hellbrauner Niederschlag aus, der sich nach zweistündigem Erhitzen nicht vermehrte. Nach dem Abkühlen wurde der entstandene Niederschlag, der sich als Pektolsäure erwies, abfiltriert. Man wusch ihn

[28]) Van der Haar, Monosaccharide 1920, S. 16.

zuerst mit Wasser, dann mit Alkohol so lange aus, bis das Filtrat salzsäurefrei war. Schließlich wurde der Niederschlag noch mit Aether nachgewaschen und an der Luft getrocknet. Ausbeute 0,7 g hellbraunes Pulver, d. h. 3,5% des lufttrocknen Ausgangsmaterials.

Die erhaltene Substanzmenge löste man in wenig Wasser, filtrierte die trübe Lösung über Kieselgur klar und versetzte sie mit konzentrierter Salzsäure, wobei in etwas gelblichen Flocken ein Niederschlag ausfiel. Er wurde wie gewöhlich filtriert, mit Wasser, Alkohol und Aether gewaschen, zunächst an der Luft und schließlich über P_2O_5 im Vakuum bei 78° bis zur Gewichtskonstanz getrocknet. Man erhielt auf diese Weise 0,3 g einer schwach gelblich gefärbten Verbindung, die bis auf gewisse Verunreinigungen auf Grund ihrer Drehung, ihrer Azidität, ihres Galakturonsäuregehaltes als Pektolsäure (Tetragalakturonsäure) von der Formel $C_{20}H_{30}O_{17}(COOH)_4$ anzusprechen ist.

Spezifische Drehung: 0,1046 g Sbst. in 10 ccm n/10 NaOH gelöst. c = 1,046; l = 1;

$$\alpha_D^{20} = -2{,}90^0. \quad [\alpha]_D^{20} = -277{,}2^0.$$

Azidität: Auf 1 g berechnet, neutralisiert die Pektolsäure direkt gegen Phenolphthalein 56,2 ccm n/10 NaOH: [Für 1 g $C_{20}H_{30}O_{17}(COOH)_4$ ber.: 55,4 ccm n/10 NaOH].

Galakturonsäure nach Tollens-Lefèvre: 0,1659 g Sbst.; 0,0379 g CO_2. Gef.: Galakturonsäure: 100,7%, ber.: 107,5%.

Das erste salzsaure Filtrat der rohen Pektolsäure wurde im Vakuum eingeengt und mit Alkohol versetzt, wobei in hellbraunen Flocken ein Niederschlag ausfiel, der nach Absaugen und gutem Auswaschen mit Alkohol und Aether und Trocknen an der Luft als hellbraunes Pulver im Gewicht von 0,9 g zurückblieb, das über P_2O_5 im Vakuum bei 78° bis zur Gewichtskonstanz getrocknet wurde. Ausbeute 0,82 g Trockensubstanz, d. h. 4,8% des trocknen Ausgangsmaterials.

Azidität: Auf 1 g. berechnet, neutralisiert die Substanz direkt gegen Phenolphthalein 26,9 ccm n/10 NaOH.

Spezifische Drehung: 0,1039 g Sbst. in 10 ccm Wasser gelöst. (Trübe Lösung, die durch Filtration über Kieselgur geklärt wurde.) c = 1,039; l = 1;

$$\alpha_D^{20} = +1{,}30^0; \quad [\alpha]_D^{20} = +125{,}1^0.$$

Galakturonsäure nach Tollens-Lefèvre: 0,2567 g Sbst.; 0,0416 g CO_2. Gef.: Galakturonsäure: 71,4%.

Die eben beschriebene Substanz besteht wahrscheinlich aus einer mit etwas Pektolaktonsäure verunreinigten Pektinsäure. Die Pektolaktonsäure selbst ließ sich aus den Filtraten nicht isolieren.

Das braun gefärbte Filtrat der zuletzt gewonnenen Substanz zeigte eine Drehung von +1,22° (l = 1). Man engte es im Vakuum bei 35 bis 40° ein, neutralisierte es unter Erwärmen mit Calciumcarbonat und versetzte das klare, hellbraune Filtrat, das zuvor wieder im Vakuum konzentriert worden war, mit Alkohol, wobei in voluminösen, etwas gelblich gefärbten Flocken ein Calciumsalz ausfiel. Nach dem Absaugen des Niederschlages, Auswaschen desselben mit Alkohol und Aether und Trocknen an der Luft gewann man 10 g hellgraues, körniges Calciumsalz, das über P_2O_5 im Vakuum bei 78° bis zur Gewichtskonstanz getrocknet wurde und dabei 17,9% Wasser verlor.

Das Calciumsalz gab eine positive Orcin- und Naphthoresorcinreaktion, reduzierte beim Erwärmen sehr stark Fehlingsche Lösung und gab mit Bleiessig beim Erhitzen auf dem Wasserbad etwas gelbbraunen Niederschlag.

Ca-Bestimmung: 0,1997 g Sbst.; 0,0228 g CaO. Gef.: Ca: 8,16%.

Spezifische Drehung: 0,1378 g Sbst. in 10 ccm Wasser gelöst. (Trübe Lösung, die über Kieselgur klar filtriert wurde.) c = 1,378; l = 1;

$$\alpha_D^{20} = +1{,}44^0; \quad [\alpha]_D^{20} = +104{,}5^0.$$

Galakturonsäure nach Tollens-Lefèvre: 0,2326 g Sbst.; 0,0220 g CO_2. Gef.: Galakturonsäure: 41,7%.

Zur Gewinnung der freien Säure wurde das Calciumsalz in wäßriger Lösung mit Oxalsäure genau ausgetüpfelt, bis ein geringer Ueberschuß von Oxalsäure vorhanden war. Das entstandene Calciumoxalat saugte man über Kieselgur ab und engte das klare Filtrat bei 35 bis 40° im Vakuum ein. Mit Alkohol versetzt fiel daraus ein flockiger gelbbrauner Niederschlag, der wie üblich abgesaugt und mit Alkohol und Aether gewaschen wurde. Nach dem Trocknen an der Luft gewann man 6,8 g hellbraune feinpulvrige Substanz, die im Vakuum bei 78° über P_2O_5 bis zur Gewichtskonstanz getrocknet wurde, wobei sie 12,6% Wasser abgab.

Spezifische Drehung: 0,1027 g Sbst. in 10 ccm Wasser gelöst. c = 1,027; l = 1;

$$\alpha_D^{20} = +1{,}30^0. \quad [\alpha]_D^{20} = +126{,}6^0.$$

Azidität: Auf 1 g berechnet, neutralisiert die Substanz 29,8 ccm n/10 NaOH direkt gegen Phenolphthalein.

Galakturonsäure nach Tollens-Lefèvre: 0,2644 g Sbst.; 0,0355 g CO_2. Gef.: Galakturonsäure: 59,2%.

Man versuchte, aus der oben beschriebenen Substanz, die wahrscheinlich eine Pektinsäure darstellt, durch 8stündiges Erhitzen auf dem Wasserbad mit 5%iger Salzsäure Pektolsäure zu gewinnen. Dabei färbte sich die Lösung tief dunkelbraun, ein Niederschlag schied sich aber nicht ab. Aus dieser Lösung ließen sich keine Substanzen mehr isolieren.

Aus dem vorliegenden Versuch ergibt sich, daß man unter gleichen Bedingungen wie bei anderen Pektinen aus Pektinaten oder Pektinsäuren des Ramiebastes nur zu einem Bruchteil Pektolsäure erhält, während die Pektolaktonsäure sich in reiner Form überhaupt nicht isolieren läßt.

Darstellung von kristallisierter d-Galakturonsäure aus Ramiebast.

Schließlich wurde noch versucht, die als wesentlichen Bestandteil der Pektinsäuren aus Ramiebast nachgewiesene d-Galakturonsäure auch in kristallisierter Form zu gewinnen.

Zu diesem Zweck ging man nicht von den Pektinsäuren, sondern direkt vom Ramiebast aus, der mit 70%igem Alkohol vorgereinigt war.

250 g mit 70%igem Alkohol vorgereinigter, lufttrockner Ramiebast mit 4,5% Wasser, der in der Trockensubstanz 6,3% Galakturonsäure enthielt, wurden in 1250 ccm 1%iger Schwefelsäure suspendiert und 30 Minuten lang auf 4 bis 4,5 atü (145 bis 150°) erhitzt. Aus dem Ramiebast waren dabei gelbbraune,

nach Furfurol riechende Substanzen in Lösung gegangen. Das Filtrat gab Orcin- und Naphthoresorcin-Reaktion, reduzierte bereits in der Kälte stark Fehlingsche Lösung und drehte + 1,12° (l = 1).

Das Filtrat wurde unter schwachem Erwärmen mit Bariumcarbonat neutralisiert und mit Tierkohle geklärt. Das hellgelbe Filtrat engte man im Vakuum bei 35 bis 40° ein und klärte es noch einmal mit Tierkohle. Beim Versetzen der klarfiltrierten Lösung mit der 5fachen Menge Alkohol fiel in gelbbraunen Flocken das Bariumsalz der Galakturonsäure aus, das mit Alkohol und Aether gewaschen und im Vakuum über Schwefelsäure getrocknet wurde. Mit Bleiessig gab eine Probe davon in Wasser gelöst beim Erhitzen auf dem Wasserbad das für die Galakturonsäure typische rote Bleisalz.

Zur weiteren Reinigung löste man das Bariumsalz in Wasser, klärte die Lösung mit Tierkohle und konzentrierte sie bei 35 bis 40° im Vakuum. Beim Versetzen der eingeengten Lösung mit dem mehrfachen Volumen Alkohol fiel das Bariumsalz teils milchig, teils in gelblich gefärbten Flocken aus. Durch mehrmaliges Absaugen auf demselben Filter erhielt man schließlich ein blankes Filtrat. Man wusch den Niederschlag mit 80%igem sowie mit gewöhnlichem Alkohol und Aether nach und trocknete ihn im Vakuum über Schwefelsäure. Ausbeute: 9 g gelblich gefärbtes Bariumsalz der Galakturonsäure.

Das immer noch verunreinigte Bariumsalz wurde einer nochmaligen Umfällung unterworfen. Man erhielt schließlich nach dem Trocknen im Vakuum über Schwefelsäure und dann über P_2O_5 bei 78° 6,5 g eines nur noch schwach gefärbten Bariumsalzes.

Spezifische Drehung: 0,1226 g Sbst. in 10 ccm Wasser gelöst.

$c = 1{,}226$; $l = 1$; $\alpha_D^{20} = +0{,}33°$. $[\alpha]_D^{20} = +26{,}9°$.

Bariumbestimmung: 0,2491 g Sbst.; 0,1128 g $BaSO_4$.

Für $(C_6H_9O_7)_2$ Ba. Gef.: Ba: 26,65, ber.: Ba: 26,24.

Zur Isolierung der d-Galakturonsäure aus dem Bariumsalz löste man 5,5 g des über Schwefelsäure getrockneten Bariumsalzes in 400 ccm Wasser und tüpfelte das Barium mit verdünnter Schwefelsäure auf einen geringen Ueberschuß von Barium-Ion aus. Das klare, fast farblose Filtrat engte man im Vakuum bei 35 bis 40° ein, versetzte es mit dem 5fachen Volumen Alkohol, wobei ein feinflockiger Niederschlag ausfiel. Das alkoholische Filtrat konzentrierte man zunächst bei 30 bis 32° im Vakuum und dann bei gewöhnlicher Temperatur im Vakuum über Calciumchlorid zu einem hellbraunen Sirup, der nach 24stündigem Stehen zu kristallisieren begann. Schließlich rieb man den Kristallbrei mit 90%igem Alkohol an, wusch nach dem Absaugen ebenfalls zunächst mit 90%igem, dann mit gewöhnlichem Alkohol und Aether nach. Nach dem Trocknen an der Luft und im Vakuum über Schwefelsäure erhielt man 1,2 g reinweiße α-d-Galakturonsäure von der Formel $C_6H_{10}O_7 \cdot H_2O$.

Eine Probe der Substanz gab, in Wasser gelöst, nach dem Erhitzen auf dem Wasserbad das für die Galakturonsäure typische ziegelrote Bleisalz und eine positive Naphthoresorcinreaktion.

Spezifische Drehung: 0,1017 g Sbst. in 10 ccm Wasser gelöst. $c = 1{,}017$; $l = 1$;

Anfangsdrehung:

$\alpha_D^{20} = +0{,}97°$; $[\alpha]_D^{20} = +95{,}4°$.

Enddrehung:

$\alpha_D^{20} = +0{,}51°$; $[\alpha]_D^{20} = +50{,}2°$. [29])

Eine nochmals umkristallisierte Probe ergab fast die gleiche spezifische Drehung.

Untersuchung des in Alkohol löslichen Hexopentosans aus dem Hydratopektin des Ramiebastes.

Untersucht wurde der in Alkohol lösliche Hexopentosananteil aus dem Hydratopektin (35,9 g) des bei 100° erhaltenen Auszugs.

Nach dem Verdampfen des Alkohols erhielt man einen dunkelbraunen, beim Trocknen im Vakuum über Schwefelsäure erhärtenden Sirup im Gewicht von 4,0 g. Dieser Sirup gab mit Orcin und Salzsäure Pentosanreaktion, mit Resorcin und Salzsäure keine Reaktion nach Seliwanoff-Weehuizen auf Ketosen. Beim Erhitzen der Substanz mit konzentrierter Salzsäure und Aceton auf dem Wasserbad nach Rosenthaler ließ sich wegen der braunen Eigenfarbe des Sirups die typische auf Methylpentosen hindeutende himbeerrote Färbung nicht beobachten, aber im Spektrum war eine schwache Absorptionsbande auf der D-Linie zu sehen. Fehlingsche Lösung wurde beim Erhitzen schwach reduziert.

Zur weiteren Reinigung löste man den Sirup in 50 ccm Wasser und filtrierte die dunkelbraune Lösung. Bei der Filtration blieb auf dem Filter eine geringe Menge einer graubraunen Substanz zurück, die die Poren des Filters verstopfte und daher die Filtration sehr verlangsamte. Diese Substanz wurde gut mit Wasser nachgewaschen und an der Luft getrocknet. Man erhielt 0,35 g, d. h. 10% des angewandten Sirups. Es wurde vermutet, daß es sich hier um eine Lignin-Harzsäure handelte, wie sie aus dem Hexopentosan des Flachspektins[30]) isoliert worden ist. Die Substanz war unlöslich in kaltem Wasser, löste sich in kochendem Wasser nur zum Teil und fiel beim Erkalten wieder aus. Mit tief dunkelbrauner Farbe löste sie sich sehr leicht in Natronlauge und fiel beim Versetzen mit Salzsäure wieder daraus aus. Eine für Lignin charakteristische Rotfärbung mit konzentrierter Salzsäure und Phloroglucin der in kaltem Alkohol gelösten Substanz wurde nicht erhalten. Ein einwandfreier Nachweis, ob hier wirklich Lignin vorlag, ließ sich bei der geringen Menge der vorhandenen Substanz nicht erbringen.

Die filtrierte, wäßrige Siruplösung wurde nun wieder im Schälchen zur Trockne auf dem Wasserbad verdampft und der Rückstand im Vakuum über Schwefelsäure getrocknet. Man erhielt schließlich 3,2 g einer dunkelbraunen erhärtenden Masse, die sich pulvern ließ und beim Trocknen im Vakuum bei 78° über P_2O_5 noch 6,3% Wasser verlor.

Spezifische Drehung: 0,1281 g Sbst. in 10 ccm Wasser gelöst, $c = 1{,}281$; $l = 0{,}5$;

$\alpha_D^{20} = -0{,}14°$. $[\alpha]_D^{20} = -21{,}9°$.

[29]) F. Ehrlich und F. Schubert geben eine Enddrehung von $[\alpha]_D = +50{,}9°$ für die aus Zuckerrüben isolierte α-d-Galakturonsäure an. Ber. Dtsch. Chem. Ges. **62**, 1974 (1932).

[30]) F. Ehrlich und F. Schubert, Biochem. Z. **169**, 13 (1926).

Bestimmung von Arabinose und Methylpentose: 0,5801 g Sbst.; 0,0481 g Furfurol- und Methylfurfurolphloroglucid. Bei der Extraktion mit 96%igem Alkohol bei 60° gingen 0,0077 g des Phloroglucidniederschlages als Methylfurfurolphloroglucid in Lösung. Aus den Mayer-Ellettschen Tabellen[31]) ergibt sich interpoliert 0,02 g entspr. 3,5% Methylpentose (Fucose).

Für Arabinose blieben als Rückstand 0,0402 g Furfurolphloroglucid. Nach Tollens- Kröber gef.: 0,0504 g entspr. 8,7% Arabinose.

Nachweis von Galaktose durch Oxydation zu Schleimsäure. 0,47 g Sirup wurden in 12 ccm Salpetersäure (spez. Gew. 1,15) gelöst und auf dem Wasserbad auf ein Drittel des Volumens eingeengt. Beim Erkalten schieden sich feine weiße Kristalle von Schleimsäure aus. Diese wurden nach dem Absaugen gut mit Wasser gewaschen und bei 105° getrocknet. Man erhielt 0,05 g Schleimsäure vom Schmp. 213 bis 214°. Diese Menge Schleimsäure entspr. ungefähr einem Galaktosegehalt des Sirups von 11,2%.

Vakuum bei 35 bis 40° einen hellbraunen Sirup, der auch nach langem Stehen nicht kristallisierte. Er gab mit Orcin und Salzsäure Pentosen-, mit Salzsäure und Aceton Methylpentosenreaktion und reduzierte beim Erwärmen Fehlingsche Lösung.

Den bei der Extraktion mit heißem Alkohol verbliebenen Rückstand löste man in Wasser. Die wäßrige Lösung, die Barium enthielt, war optisch inaktiv und gab weder Orcin- noch Naphthoresorcinreaktion. Irgendwelche Kohlehydrate schienen also darin nicht mehr vorhanden zu sein.

Aus den vorliegenden Untersuchungen wäre also zu folgern, daß im alkohollöslichen Teil des Hydratopektins aus Ramiebast Araban nicht die einzige Komponente ist, wie sonst in den Pektinarten von Wurzeln und Obstfrüchten beobachtet wurde, sondern daß darin ein schwach linksdrehendes Anhydrid von Hexosen, Pentosen und Methylpentosen auftritt. Dieses Kohlehydratgemisch, dessen Menge etwa 25% des alkohollöslichen Anteils des Hydratopektins ausmacht, ähnelt in mancher Hinsicht dem Hexopentosan des Flachspektins[32]). Wie

Tabelle 5.

1,5 g trocknes Hexopentosan in 200 ccm 1%iger Schwefelsäure zur Hydrolyse angesetzt. Zur Bestimmung der Reduktion wandte man jedesmal 5 ccm der Hydrolysenflüssigkeit an.

Zeit des Erhitzens in Std.	α_D^{20} des Hydrolysats (l=1).	$[\alpha]_D^{20}$	Reduktion mg Cu.	Entsprechend mg Glykose.	Gesamtzucker als Glykose berechn. in %
0	−0,08°	−10,7°	8,6	4,2	11,2
1/2	+0,04°	+ 5,3°	11,8	5,7	15,2
1	+0,12°	+16,0°	16,4	8,0	21,3
2	+0,16°	+21,3°	18,2	9,0	24,0
3	+0,16°	+21,3°	18,7	9,3	24,8
3 1/2	+0,16°	+21,3°	19,7	9,6	25,6

Hydrolyse des Hexopentosans:

1,5 g trockne Substanz wurden in 200 ccm 1%iger Schwefelsäure gelöst, zunächst unter Rückfluß 3 Stunden auf dem Wasserbad und schließlich noch 1/2 Stunde über freier Flamme erhitzt. Wie aus den Zahlen der folgenden Tabelle hervorgeht, war die Hydrolyse bereits nach 2stündigem Erhitzen auf dem Wasserbad beendet. Reduktion und Drehung hatten nach dieser Zeit konstante Werte erreicht.

Der Fortschritt der Hydrolyse ist aus der folgenden Tabelle 5 zu ersehen.

Nach beendeter Hydrolyse wurde die verbleibende Lösung unter schwachem Erwärmen mit überschüssigem Bariumcarbonat neutralisiert und mit Tierkohle geklärt. Das gelblich gefärbte, klare Filtrat verdampfte man bei 35 bis 40° zur Trockne und extrahierte den verbleibenden Rückstand mit heißem 96%igem Alkohol, wobei ein großer Teil der Substanz ungelöst zurückblieb. Die klaren, alkoholischen Filtrate verdampfte man nun wieder zur Trockne, behandelte den Rückstand mit kaltem 90%igem Alkohol, wobei bis auf eine geringe Trübung alles in Lösung ging. Aus diesen Filtraten erhielt man nach Verdampfen des Alkohols im

die obigen Versuche wahrscheinlich machen, enthält es Arabinose, eine Methylpentose und Galaktose, während Fruktose darin nicht vorhanden ist. Die Zusammensetzung des Hexopentosananteils zeigt ebenso wie die des Pektinsäureanteils, daß das ursprüngliche Pektin des Ramiebastes analog wie das Pektin des Flachses beim Wachstum und Altern der Pflanze wesentliche Veränderungen erlitten hat.

Wasserunlösliches Pektin im Ramiebast.

Bei der erschöpfenden Auslaugung des Ramiebastes mit kochendem Wasser bei gewöhnlichem und erhöhtem Druck hinterblieb jedesmal ein hellgrauer, fasriger Rückstand, der selbst nach langem Kochen mit Wasser unter Druck an dieses nur noch Substanzen abgab, die keine Galakturonsäure mehr enthielten. Wie die Analysen aber zeigten, enthielt dieser Bastrückstand noch recht beträchtliche Mengen von Verbindungen, die nach dem Erhitzen mit Salzsäure die Naphthoresorcin-Reaktion auf Uronsäuren gaben. Es ließ sich feststellen, daß von der im vorgereinigten trocknen Ramiebast enthaltenen Menge Galakturonsäure von 6,5% im

[31]) Van der Haar, Monosaccharide 1920, S. 83.

[32]) F. Ehrlich und F. Schubert, Biochem. Z. 169, 13 (1926).

ganzen 3,9% in Form von Hydratopektin in Lösung gegangen war, d. h. 60% der gesamten ursprünglich vorhandenen Menge Galakturonsäure. Der Restbetrag von etwa 40% findet sich in einer auch in heißem Wasser unlöslichen Form im Rückstand des ausgekochten Ramiebastes ganz im Gegensatz zu früheren Versuchsergebnissen an Fruchtpektinen, wobei die Auskochung mit Wasser meist zur totalen Auflösung des Pektins geführt hatte.

Die bisher ungeklärte Frage nach der Natur des wasserunlöslichen Pektins schien entschieden zu sein, wenn es auf irgendeine Weise gelang diese Substanz in Lösung zu bringen und näher zu untersuchen. Man ging dabei von der Annahme aus, daß es sich hier wahrscheinlich um das wasserunlösliche Calciumsalz einer Tetragalakturonsäure, nämlich der Pektolsäure von der Formel $C_{20}H_{30}O_{17}(COOH)_4$ handelte, die während des Wachstums der Pflanze durch fermentativen Abbau des Pektins entstanden war und sich nach Umsetzung mit löslichen Kalksalzen des Saftes als Calciumsalz auf den Bastfasern niedergeschlagen hatte. Tatsächlich ließ sich zeigen, daß bei der Behandlung des Ramierückstandes schon mit sehr verdünnter kalter Salzsäure beträchtliche Mengen Calcium in Lösung gingen und daß nach Auswaschen des entstandenen Calciumchlorids und der Salzsäure nunmehr aus dem Ramierückstand mit kochendem Wasser eine Säure auszuziehen war, die in allen ihren Eigenschaften als eine mit der Pektolsäure identische Verbindung erkannt wurde.

Als Material für diese Untersuchung diente ein von dem wasserlöslichen Pektin durch Auskochen mit Wasser bei gewöhnlichem und erhöhtem Druck völlig befreiter Rückstand von Ramiebast, der in der Trockensubstanz noch 2,9% Galakturonsäure enthielt.

435 g lufttrockener Ramierückstand (mit 4,6% Wasser) wurde in 4 Liter 1%ige Salzsäure suspendiert und unter häufigem Umrühren bei Zimmertemperatur längere Zeit stehen gelassen. Nach 30 Stunden zeigte das gelblich gefärbte Filtrat eine Drehung von $+0{,}37°$ ($l = 2$), die weiterhin nicht mehr zunahm. Das Filtrat enthielt viel Calcium und gab eine positive Naphthoresorcin-Reaktion. Die Fasern wurden nach dem Absaugen und Nachwaschen mit 1%iger Salzsäure noch einmal in 4 Liter frischer Säure suspendiert. Das nunmehr klare und farblose Filtrat zeigte nach längerem Stehen eine Drehung von $+0{,}16°$ ($l = 2$). Die Fasern wurden nochmals auf der Nutsche abgesaugt und mit Salzsäure nachgewaschen, bis das Filtrat keine Reaktion auf Calcium mehr gab. Die den Fasern anhaftende Salzsäure entfernte man durch gründliches Auswaschen mit Alkohol. Schließlich wusch man die Fasern noch gut mit Aether nach und trocknete sie an der Luft. Man erhielt sehr weiße, lockere Fasern im Gewicht von 419 g (enth. 3,6% Wasser) d. h. 96,3% auf lufttrockenes Ausgangsmaterial bezogen.

415 g dieses lufttrocknen Ramiefaserrückstandes wurden mit je $3\frac{1}{2}$ Liter Wasser jedesmal je 2 Stunden ausgekocht. Die Auszüge reagierten sauer gegen Lackmus, zeigten erhebliche Rechtsdrehungen und gaben Naphthoresorcinreaktion.

Der Verlauf dieser wäßrigen Auskochungen ist aus der nachfolgenden Tabelle 6 zu ersehen.

Die wäßrigen Filtrate wurden zunächst gemeinsam im Vakuum bei 35 bis 40° eingeengt und dann im

Tabelle 6.

415 g lufttrockner mit verdünnter Salzsäure vorbehandelter Ramiebastrückstand mit je $3\frac{1}{2}$ Liter Wasser je 2 Stunden ausgekocht.

Dauer der Auskochung in Stunden	Wäßriger Extrakt α_D (l=2)	Naphtho-resorcin-Reaktion	Verhalten gegen Lackmus	Verhalten gegen Salzsäure
2	+ 0,57°	+	sauer	Fällung
2	+ 0,16°	+	„	„
2	+ 0,07°	+	„	„
2	+ 0,02°	negativ	neutral	keine Fäll.

Schälchen auf dem Wasserbad zur Trockne verdampft. Man erhielt auf diese Weise 7,6 g körnige hellbraune Substanz, die in kaltem Wasser nur wenig löslich war.

Zur weiteren Reinigung löste man die gewonnene Substanz in kochendem Wasser, klärte die Lösung mit Kieselgur und versetzte das klare, etwas gelbliche Filtrat mit konzentrierter Salzsäure, wobei in feinen, weißen Flocken ein Niederschlag ausfiel, der in der üblichen Weise filtriert, mit Alkohol und Aether gewaschen und an der Luft getrocknet wurde. Man erhielt 4,4 g feinpulvrige, weiße Substanz, die beim Trocknen über P_2O_5 bei 78° 12,3 Wasser abgab. Die Analysenresultate zeigen deutlich, daß die vollkommen getrocknete Verbindung in ihrer Zusammensetzung und in ihren übrigen Eigenschaften einer fast reinen Pektolsäure entspricht.

Elementaranalyse: 0,3162 g Sbst.; 0,0006 g Asche (0,19%); 0,4588 g CO_2; 0,1330 g H_2O.

Auf aschefreie Sbst. ber., gef.: C: 39,65; H: 4,72.

Für $C_{20}H_{30}O_{17}(COOH)_4$ ber.: C: 39,89; H: 4,71.

Azidität: Auf 1 g berechnet, neutralisiert die Substanz 55,6 ccm n/10 NaOH direkt gegen Phenolphthalein. [Für 1 g $C_{20}H_{30}O_{17}(COOH)_4$ ber. 55,4 ccm n/10 NaOH.]

Spezifische Drehung: 0,3022 Sbst. in 10 ccm n/10 NaOH gelöst. $c = 3{,}022$; $l = 1$;

$$\alpha_D^{20} = +8{,}73°. \quad [\alpha]_D^{20} = +288{,}9°.$$

Galakturonsäure nach Tollens-Lefèvre:

0,3562 g Sbst.; 0,0864 g CO_2;

gef.: Galakturonsäure: 106,9%;

ber. für $C_{20}H_{30}O_{17}(COOH)_4$: Galakturonsäure: 107,5%.

Weiterhin ließ sich noch ein kleiner Teil Pektolsäure isolieren, der bei der oben beschriebenen Extraktion des Ramierückstandes mit 1%iger Salzsäure neben anderen Galakturonsäureverbindungen direkt in die salzsaure Lösung übergegangen war. Man gewann ihn durch vorsichtiges Einengen der salzsauren Filtrate bei 35 bis 40° im Vakuum, wobei sich nach dem Abkühlen die Pektolsäure in Form feiner weißer Flocken ausschied. Durch Abfiltrieren und Auswaschen in der üblichen Weise erhielt man noch 1,6 g lufttrockne, schwach gefärbte rohe oder 0,8 g umgefällte, reine, vollständig getrocknete Pektolsäure mit ähnlichen Konstanten wie die oben beschriebene Säure.

Im ganzen wurden also aus dem Ramierückstand in Form von reiner vollkommen getrockneter Substanz 4,7 g Pektolsäure gewonnen.

Aus dem salzsauren Filtrat der zuletzt erhaltenen Pektolsäure (1,6 g) fiel nach dem Einengen im Vakuum mit viel Alkohol noch 1,7 g einer hellbräunlichen, viel Asche enthaltenden, deutlich reduzierenden Substanz aus, die den Analysen zufolge als eine wenig reine Pektolaktonsäure anzusprechen ist.

Beim Trocknen im Vakuum bei 78° über P_2O_5 verlor diese Substanz 24,8% Wasser.

Spezifische Drehung: 0,1331 g Sbst. in 10 ccm Wasser gelöst. (Trübe Lösung, die durch Filtration über Kieselgur geklärt wurde.) $c = 1{,}331$; $l = 1$; $\alpha_D^{20} = +2{,}43^0$. $[\alpha]_D^{20} = +182{,}6^0$.

Azidität: Auf 1 g berechnet, neutralisiert die Substanz direkt gegen Phenolphthalein 16,8 ccm n/10 NaOH. Bei 2stündigem Stehen mit überschüssiger Lauge verbraucht die Substanz noch 10,3 ccm n/10 NaOH. Im ganzen neutralisiert 1 g der oben isolierten Substanz 27,1 ccm n/10 NaOH.

Galakturonsäure nach Tollens-Lefèvre: 0,4368 g Sbst.; 0,0861 g CO_2; gef.: Galakturonsäure 86,9%.

Eine ebenso stark aschehaltige rohe Pektolaktonsäure ergab sich in fast gleichen Mengen (1,7 g) aus dem bei der Umfällung der Hauptmenge der Pektolsäure (4,4 g) abfallenden salzsauren Filtrat nach dem Einengen und Fällen mit Alkohol. Die ebenfalls hellbraune aschereiche, reduzierende Substanz verlor beim Trocknen im Vakuum bei 78° über P_2O_5 15,1% Wasser.

Spezifische Drehung: 0,1425 g Sbst. in 10 ccm Wasser gelöst. (Trübe Lösung, die durch Filtration über Kieselgur geklärt wurde.) $c = 1{,}425$; $l = 1$; $\alpha_D^{20} = +2{,}44^0$. $[\alpha]_D^{20} = +171.2^0$.

Azidität: Auf 1 g berechnet, neutralisiert diese Substanz direkt gegen Phenolphthalein 17,8 ccm n/10 NaOH. Beim Stehen der neutralisierten Lösung mit überschüssiger Lauge wurden noch 9,7 ccm n/10 NaOH verbraucht. Im ganzen neutralisiert 1 g Substanz demnach 27,5 ccm n/10 NaOH.

Galakturonsäure nach Tollens-Lefèvre: 0,3765 g Sbst.; 0,0583 g CO_2; gef.: Galakturonsäure 68,3%.

Auch hier handelt es sich wohl um ein Gemisch von Pektolaktonsäure und anderen Galakturonsäureverbindungen, die ursprünglich im Rückstand des Ramiebastes ebenso wie die Pektolsäure in Form von wasserunlöslichen Kalksalzen vorgelegen haben.

Der nun noch verbleibende Ramiebastrückstand wog lufttrocken 405 g und verlor beim Trocknen bei 110° 3,9% Wasser. Er enthielt nur noch Spuren von Galakturonsäure, da er nach Tollens-Lefèvre erhitzt nur 0,23% CO_2 abspaltete und keine Naphthoresorcinreaktion mehr gab.

Zum Schluß sei noch der besseren Uebersicht halber folgende Bilanz über die im Ramiebast insgesamt vorhandenen Galakturonsäure-Verbindungen angegeben:

Der mit Alkohol vorgereinigte Ramiebast enthielt in der Trockensubstanz ursprünglich im Durchschnitt 6,5% Galakturonsäure als $C_6H_{10}O_7$ berechnet. Von dieser Gesamtmenge wurden 60% der Galakturonsäure (nämlich 3,9% auf Ramiebast bezogen) bei der erschöpfenden Auslaugung mit Wasser in Form von Hydratopektin gewonnen. Etwa 40% Galakturonsäure verblieben im Ramiebast als unlösliche Kalksalze der Pektolsäure neben anderen Galakturonsäureverbindungen.

Im einzelnen ließen sich von diesen ursprünglich wasserunlöslichen Pektinverbindungen bezogen auf die gesamte im Ramiebast vorhandene Menge Galakturonsäure isolieren:

18,5% Galakturonsäure in Form von Pektolsäure.

7,7% Galakturonsäure in Form von Pektolaktonsäure im Gemisch mit anderen Galakturonsäureverbindungen.

Demnach sind im ganzen von den Komponenten der Galakturonsäuresubstanz des Ramiebastes etwa 86% chemisch nachgewiesen.

Lebenslauf

Am 2. November 1906 wurde ich als Tochter des Studienrats Prof. Dr. Max Haensel in Myslowitz O/S. geboren. Nach dreijährigem Privatunterricht besuchte ich die höhere Mädchenschule in Rosdzin-Schoppinitz O/S., darauf das Lyzeum und die Studienanstalt in Kattowitz O/S., dann das Oberlyzeum in Elbing Ostpr. und schließlich die Oberprima der Cecilienschule in Breslau, wo ich 1926 die Reifeprüfung bestand. Anschließend studierte ich an der Technischen Hochschule zu Breslau Chemie und bestand im Dezember 1931 die Diplomhauptprüfung. Seit Dezember 1931 war ich im Institut für Biochemie und landw. Technologie der Universität Breslau mit der Abfassung vorliegender Arbeit beschäftigt.

Vorliegende Arbeit wurde im Institut für Biochemie und landw. Technologie der Universität Breslau ausgeführt.

Am Schluß erfülle ich die angenehme Pflicht, Herrn Professor Dr. F. Ehrlich für die freundliche Unterstützung und Förderung bei der Ausführung dieser Arbeit meinen verbindlichsten Dank auszusprechen.

Druck: Otto Elsner, Berlin S 42